

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE
NÍVEL MESTRADO

JHENIFER KARVAT

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM CRIOTERAPIA EM
MODELO EXPERIMENTAL DE COMPRESSÃO DO NERVO
ISQUIÁTICO EM RATOS *WISTAR***

CASCAVEL-PR
Fevereiro/2016

JHENIFER KARVAT

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM CRIOTERAPIA EM
MODELO EXPERIMENTAL DE COMPRESSÃO DO NERVO
ISQUIÁTICO EM RATOS *WISTAR***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Processo saúde-doença

Orientador: Professor Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini

CASCAVEL-PR
(Fevereiro/2016)

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

K29a

Karvat, Jhenifer

Avaliação do tratamento com crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos Wistar. /Jhenifer Karvat. Cascavel, PR: UNIOESTE, 2016.

90 p.

Orientador: Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2016.

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

1. Modalidades de fisioterapia. 2. Nervos periféricos - Traumatismos. 3. Compressão nervosa. I. Bertolini, Gladson Ricardo Flor. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 615.82

616.8

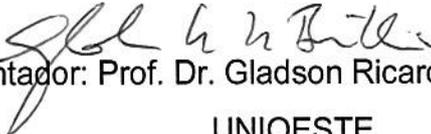
CIP-NBR 12899

FOLHA DE APROVAÇÃO

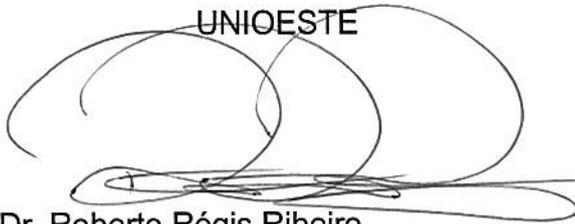
JHENIFER KARVAT

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM CRIOTERAPIA EM MODELO
EXPERIMENTAL DE COMPRESSÃO DO NERVO ISQUIÁTICO EM
RATOS WISTAR**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.


Orientador: Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini
UNIOESTE


Prof.^a Dra. Patricia Oehlmeyer Nassar

UNIOESTE

Prof. Dr. Roberto Régis Ribeiro
FAG

CASCADEL-PR

(fevereiro/2016)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Angela M. A. Karvat e Valter Karvat, pelo amor, educação, dedicação, incentivo e apoio que sempre me concederam.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelas oportunidades que têm me dado e por ter me ajudado a chegar até aqui.

Ao meu orientador Professor Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini, por tudo que ensinou nesses sete anos de orientação, desde o PIBIC na graduação até agora no mestrado.

Aos meus pais, Angela e Valter, e aos meus irmãos por estarem sempre ao meu lado em todas as dificuldades.

Ao meu namorado Rodolfo Lorbieski, por sempre me ajudar quando necessário e pelo apoio nesses dois anos de mestrado.

Agradeço às professoras Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro e Dra. Rose Meire Costa Brancalhão, que sempre estavam à disposição para ajudar durante a pesquisa.

Às minhas colegas de profissão e amigas que ajudaram na execução do projeto Camila Mayumi e Lizyana Vieira.

Ao técnico Assis Escher que sempre está disposto a ajudar em todas as cirurgias, aos amigos dos laboratórios LELRF e LABEF: Regina, Daniele, Vinícius, Keli, Alana, Juliana Roncini, Juliana Souza, Juliana Sobral e em geral a todos os colaboradores do projeto que, direta e indiretamente, me ajudaram na realização deste trabalho.

À Capes, pela bolsa de estudos.

A todos, muito obrigada!!!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO GERAL

Esta dissertação é composta por uma introdução geral, pela revisão de literatura geral e por dois artigos científicos.

Lesões dos nervos periféricos podem ocorrer por esmagamento, compressão e transecção, o que resulta em dor e em redução, ou perda, da sensibilidade e da motricidade no território inervado. Entre as afecções mais comuns está a compressão do nervo isquiático, responsável pela inervação da parte posterior da coxa, da perna e do pé. Diversas formas de tratamento podem ser utilizadas para essa disfunção, sendo que, dentro da fisioterapia existe a crioterapia, embora haja uma carência na literatura a respeito dessa modalidade no tratamento da lesão nervosa periférica. Dessa maneira, o objetivo do estudo foi avaliar o tratamento com crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático de ratos *Wistar*. Foram utilizados 42 ratos distribuídos aleatoriamente nos grupos: G1 – controle; G2, G3 e G4 – grupos que foram submetidos à compressão do nervo isquiático, mas não receberam tratamento, eutanasiados no 3º, 8º e 15º pós-operatório (PO), respectivamente; G5, G6 e G7 – grupos que foram submetidos à compressão do nervo isquiático e tratados com crioterapia, eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO, respectivamente. A compressão do nervo isquiático foi realizada com o auxílio de pinça hemostática, durante 30 segundos. Para o tratamento com crioterapia em G5, G6 e G7, os animais foram posicionados com o membro pélvico lesionado (direito) imerso em recipiente com água e gelo a 5°C por 20 minutos, sendo a primeira intervenção imediatamente após a lesão. G5 foi submetido apenas a uma sessão de tratamento, enquanto G6 e G7 retornaram ao tratamento do 3º ao 7º PO. As avaliações funcionais foram realizadas por meio do índice funcional do isquiático (IFC), teste de incapacidade funcional, nocicepção e edema, que aconteceram nos seguintes momentos: pré-lesão, 2º PO e no dia correspondente a eutanásia de cada grupo lesionado, sendo G1 avaliado nos mesmos momentos que os grupos submetidos à lesão, porém, eutanasiado no 15º PO. Após o período de intervenção, o nervo isquiático foi coletado e processado para a análise morfológica. Os dados obtidos foram analisados por meio de ANOVA mista, com nível de significância de 5%. De acordo com os resultados, houve diminuição do IFC após a lesão, independente da crioterapia. O teste de incapacidade funcional mostrou aumento do tempo de elevação da pata após a lesão. A nocicepção realizada no local da lesão mostrou diminuição do limiar de retirada dos grupos lesionados, entretanto, houve aumento do limiar nos grupos relacionados às avaliações do 8º e 15º PO. Já a nocicepção realizada na região plantar foi semelhante a anterior, porém, o limiar não aumentou. Além disso, os animais apresentaram edema no 2º PO correspondente a G1, G4 e G7 e no 3º PO, o qual não reduziu. Em relação à análise morfológica, G1 apresentou fibras nervosas com aspecto morfológico normal, enquanto que nos grupos lesionados houve degeneração nervosa. Houve uma discreta recuperação das fibras nervosas em G6, bem como regeneração em G4 e em G7. Conclui-se que o protocolo de crioterapia utilizado não foi eficaz na recuperação de todos os parâmetros funcionais analisados, entretanto, houve uma discreta melhora dos aspectos morfológicos do grupo eutanasiado no 8º PO.

Palavras-Chaves: Modalidades de fisioterapia; Traumatismos dos nervos periféricos; Compressão nervosa.

GENERAL ABSTRACT

This thesis consists of an introduction and general literature review, as well as two scientific articles.

Injury to the peripheral nerves can occur by crushing, compression and transection, resulting in pain, reduction or loss of sensory and motor in the innervated area. Among the most common disorders is compression the sciatic nerve, responsible for the innervation of the back leg thigh and foot. Various forms of treatment can be used for this dysfunction, and within the physical therapy there is cryotherapy, however there is a lack in the literature regarding cryotherapy as a treatment for peripheral nerve injury. Thus, this study has the aim to evaluate treatment with cryotherapy in an experimental model of sciatic nerve compression in *Wistar* rats. 42 rats were randomly separated in groups: G1 - control; G2, G3 and G4 - groups that were submitted to sciatic nerve compression without receiving any treatment, being euthanized on the 3rd, 8th and 15th postoperative (PO), respectively; G5, G6 and G7 - groups that were submitted to sciatic nerve compression and treated with cryotherapy, euthanized at 3rd, 8th and 15th PO, respectively. The sciatic nerve compression was performed using a hemostat for 30 seconds. For treatment with cryotherapy in G5, G6 and G7, the animals were placed on the injured hind limb (right) immersed in a container with water and ice at 5 °C for 20 minutes, the first intervention immediately after the injury. G5 was only submitted to a treatment session, while G6 and G7 returned to the treatment of the 3rd to the 7th PO. Functional assessments were performed using the Sciatic Functional Index (SFI), functional disability test, nociception and edema, which occurred in stages: pre-injury, 2nd PO and the corresponding day euthanasia of each injured group, and G1 rated at the same time that the groups submitted to injury, however euthanized in 15th PO. After the intervention period, the animals were under anesthesia and the sciatic nerve collected for morphological analysis. It was used ANOVA mixed model for statistical analysis with 5% significance level. According to the results, there was a decrease of SFI after injury, independent of cryotherapy. The functional disability test showed an increase in paw rise time after injury. Nociception held at the injury site showed decreased the withdrawal threshold of the injured groups, however there was increase in the threshold in groups related to the assessments of the 8th and 15th PO. Nociception held in the plantar region was similar to the previous one, but the withdrawal threshold did not increase. In the evaluation of edema animals showed edema after the injury in the groups evaluated on 2nd PO corresponding the G1, G4 and G7, and on 3rd PO, which is not reduced. Regarding morphological analysis, G1 had nerve fibers with standard morphology, while the injured groups have nerve degeneration, and G6 showed a slight recovery of the nerve fibers, and present regeneration in the G4 and G7. We conclude that the cryotherapy protocol used was not effective to recover all the functional parameters analyzed, however, there was a slight improvement in the morphology of the group euthanized on the 8th PO.

Key Words: Nerve Crush, Physical Therapy Modalities, Peripheral Nerve Injuries.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Geral.....	14
2.2 Específicos	14
3 REVISÃO GERAL DE LITERATURA.....	15
3.1 Estrutura dos nervos periféricos.....	15
3.1.1 Estrutura do nervo isquiático	17
3.2 Lesões nervosas periféricas: Degeneração e Regeneração.....	19
3.3 Cialgia	23
3.4 Tratamento com crioterapia	24
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
5 ARTIGO CIENTÍFICO 1	33
5.1 APÊNDICE A	48
6 ARTIGO CIENTÍFICO 2	51
6.1 APÊNDICE B	73
7 CONCLUSÃO GERAL.....	76
8 ANEXO A.....	77
9 ANEXO B.....	78
10 ANEXO C.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Célula nervosa apresentando corpo celular, dendritos, axônio mielinizado envolto por célula de Schwann e nódulo de Ranvier.....	16
Figura 2	Desenho esquemático da fibra nervosa envolvida pelas bainhas de tecido conjuntivo: epineuro, perineuro e endoneuro	17
Figura 3	Desenho esquemático do nervo isquiático formado pelas raízes de L4 a S3 da medula espinal.....	18
Figura 4	Estrutura do nervo isquiático de ratos.....	18
Figura 5	Classificação da lesão nervosa periférica de acordo com modelo de Seddon (1943).....	20
Figura 6	Classificação da lesão nervosa pelo modelo de Sunderland (1978).....	21
Figura 7	Degeneração e regeneração após a lesão no nervo periférico.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná
LELRF	Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos
NGF	Fator de Crescimento Nervoso
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo
PO	Pós – operatório
mg/kg	Miligrama por kilograma
cm	Centímetros
IFC	Índice funcional do isquiático
PL	<i>Print lenght</i>
TS	<i>Total spread</i>
IT	<i>Intermediate toes</i>
TEP	Tempo de elevação da pata
HE	Hematoxilina e eosina

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os nervos periféricos são alvo de lesões por esmagamento, compressão e transecção. Tais condições resultam em dor, em redução ou em perda da sensibilidade e da motricidade no território inervado (WOOD et al., 2011). Entre as afecções mais comuns está a compressão do nervo isquiático, que pode levar a ciatalgia (STAFFORD; PENG; HILL, 2007).

A ciatalgia caracteriza-se como dor que irradia para o membro inferior, normalmente abaixo do joelho, na distribuição dos dermatômos de L5 e S1, é associada com parestesias, rigidez, fraqueza muscular, além de haver possível déficit neurológico como paresia e alterações reflexas (HILDRETH; LYNN; GLASS, 2009; KONSTANTINO; DUNN, 2008). Essa condição pode afetar jovens economicamente ativos, o que aumenta as chances de faltas no trabalho, e diminui as taxas de retorno, onerando, portanto, o sistema público de saúde e previdenciário (GRØVLE et al., 2013).

Em 90% dos casos a ciatalgia é causada por hérnias de disco, com compressão das raízes nervosas, geralmente de L5 e S1, o que gera um quadro de lombociatalgia (VALAT et al., 2010). Ademais, alterações inflamatórias, resultando na irritação ou na compressão da raiz nervosa por seus tecidos circundantes, estenose lombar, traumas, tumores, cistos, disfunção postural, espasmos musculares e síndrome do piriforme são outras possíveis causas (LIS et al., 2007).

Existem diversas formas de tratamento para essa disfunção, dentre elas podem ser citados o repouso inicial, as terapias medicamentosas, que geralmente apresentam efeitos colaterais, colocando em dúvida o risco/benefício, as intervenções cirúrgicas e as não cirúrgicas (VALAT et al., 2010). Dentre as

opções de tratamento conservador não farmacológico, incluem-se as modalidades fisioterapêuticas (HILDRETH; LYNN; GLASS, 2009), como a crioterapia, que promove redução do calor corporal, resultando na diminuição da temperatura tecidual, sendo seus principais efeitos fisiológicos a redução do fluxo sanguíneo, do metabolismo e da velocidade de condução nervosa (HERRERA et al., 2010). Essas alterações resultam em efeitos terapêuticos que levam à diminuição da reação inflamatória no trauma agudo, da dor, do espasmo muscular e do retardo na formação de edema (ESPINOZA; BUSTAMANTE; PÉREZ, 2010; OLIVEIRA Jr; LARGES, 2012).

A forma de aplicação mais eficaz da crioterapia no tratamento de lesão nervosa é por imersão, pois resfria uma área maior em comparação com outras modalidades (HERRERA et al., 2011). Além disso, vários autores afirmam que um tempo aproximado de 20 minutos de crioterapia é eficaz para atingir efeitos terapêuticos, voltados principalmente à diminuição da temperatura, da excitabilidade de terminações nervosas livres, produzindo, pois, aumento no limiar de dor (ABREU; SANTOS; VENTURA, 2011; CERQUEIRA et al., 2013; FELICE; SANTANA, 2009). Entretanto, apesar das indicações da crioterapia, também são descritas contraindicações, em que a aplicação direta sobre áreas de trajeto nervoso superficial pode causar lesões temporárias como parestesia, disestesia e bloqueio da condução nervosa (ESPINOZA; BUSTAMANTE; PÉREZ, 2010).

Considerando que as cialgias afetam uma grande parte da população economicamente ativa; que há carência de estudos e divergência na literatura referente à indicação e contraindicação da crioterapia como uma alternativa para o tratamento de lesões nervosas periféricas, justifica-se o estudo com tal abordagem.

Esta dissertação apresenta dois artigos científicos. O primeiro é intitulado: “Avaliação da nocicepção e edema em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*, tratados com crioterapia”, submetido à Revista Dor. O segundo artigo é intitulado: “Efeito da crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*: análise funcional e morfológica” e será submetido à Revista Brasileira de Reumatologia.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito do tratamento com crioterapia de imersão em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*, por meio de análise funcional e morfológica.

2.2 Específicos

Artigo 1: Analisar a nocicepção e a formação do edema de ratos *Wistar* submetidos ao modelo experimental de compressão do nervo isquiático, tratados com crioterapia.

Artigo 2: Analisar o índice funcional, nocicepção, morfologia e a resposta inflamatória do nervo isquiático de ratos *Wistar* submetidos ao modelo experimental de compressão, tratados com crioterapia.

3 REVISÃO GERAL DE LITERATURA

3.1 Estrutura dos nervos periféricos

O neurônio é a unidade funcional do nervo periférico, constituído por corpo celular, localizado na medula ou no gânglio espinal, dendritos que são prolongamentos do corpo celular e a fibra nervosa que é formada pelo axônio envolto por bainha de mielina e por células de Schwann (Figura 1) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Dessa maneira, os nervos consistem de cordões esbranquiçados, formados por feixes de fibras nervosas, as quais podem ser mielínicas e amielínicas. Quando estão envoltas por várias camadas de mielina, produzidas pelas células de Schwann, são denominadas de fibras mielínicas, além disso, apresentam nódulos de Ranvier (bainha de mielina interrompida em intervalos regulares), que permitem a condução saltatória do impulso nervoso. Já as fibras amielínicas podem, ou não, estar envoltas por uma camada de mielina, e não apresentam nódulos de Ranvier (DANGELO; FATTINI, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Ainda, as fibras nervosas são circundadas por várias bainhas de tecido conjuntivo, denominadas: epineuro, perineuro e endoneuro (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

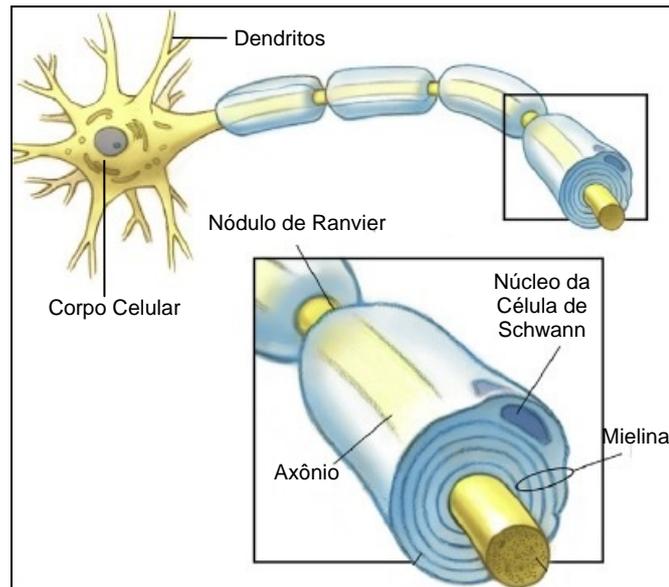


Figura 1 – Célula nervosa apresentando corpo celular, dendritos, axônio mielinizado envolto por célula de Schwann e o nódulo de Ranvier. Esquema adaptado (HOUDEK; SHIN, 2015).

O epineuro é a camada envoltória mais externa, composto por tecido conjuntivo colagenoso denso, não modelado, contendo algumas fibras elásticas grossas que envolvem totalmente o nervo. As fibras de colágeno dessa bainha estão alinhadas e orientadas de modo a impedir danos por distensão excessiva do feixe nervoso. O perineuro é a camada média, cobre individualmente cada feixe de fibras nervosas (fascículo) dentro do nervo, sendo composto por tecido conjuntivo denso. A espessura do perineuro se reduz progressivamente até ficar reduzido a uma lâmina de células achatadas. Quanto ao endoneuro, a camada mais interna, envolve fibras nervosas individuais (axônios) e é um tecido conjuntivo frouxo composto por uma delgada camada de fibras reticulares (produzidas pelas células de Schwann subjacentes), fibroblastos dispersos, macrófagos fixos, capilares e mastócitos perivascularares na matriz extracelular. Perto da terminação distal do axônio, o endoneuro fica reduzido a algumas fibras reticulares envolvidas pela lâmina basal, das células de Schwann do axônio (Figura 2) (GARTNER; HIATT, 1999).

Além disso, cada feixe de fibra nervosa apresenta componentes sensitivos e motores. Os nervos que possuem somente fibras aferentes são sensitivos e os formados exclusivamente por fibras eferentes são nervos motores. Os nervos espinais possuem fibras dos dois tipos, sendo considerados nervos mistos, como é o caso do nervo isquiático (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

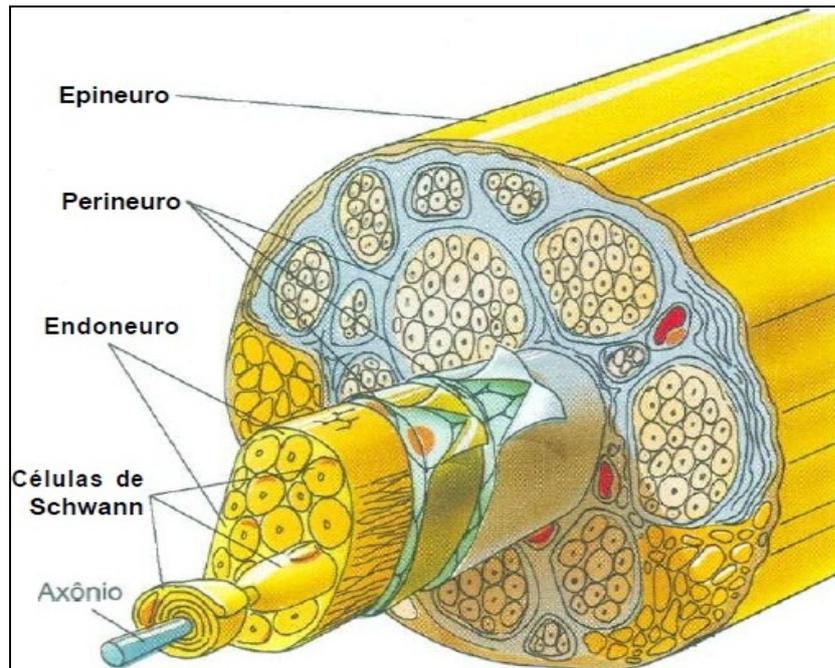


Figura 2 - Desenho esquemático da fibra nervosa envolvida pelas bainhas de tecido conjuntivo: epineuro, perineuro e endoneuro (GARTNER; HIATT, 1999).

3.1.1 Estrutura do nervo isquiático

O nervo isquiático é o maior nervo do corpo humano, sendo responsável pela inervação da parte posterior da coxa, perna e pé (IRINTCHEV, 2011; SAVASTANO et al., 2014). É formado pelas raízes de L4 a S3 da medula espinal, deixa a pelve por meio do forame isquiático maior, passando abaixo do músculo piriforme, desce entre o trocânter maior do fêmur e a tuberosidade isquiática, e ao longo da parte posterior da coxa, anterior aos músculos bíceps femoral e semitendinoso, até seu terço inferior, em que se divide em dois grandes ramos denominados nervo tibial e nervo fibular comum (Figura 3) (DISTAD; WEISS, 2013; FONSECA et al., 2002).

O nervo tibial inerva os músculos isquiotibiais (semimembrâneo, semitendíneo, bíceps femoral cabeça longa) e adutor magno, o qual se divide para formar o ramo sural em grande parte sensorial, e em ramo gastrocnêmio, poplíteo, sóleo e plantar, que inervam os grupos musculares de mesmo nome (DISTAD; WEISS, 2013; SAVASTANO et al., 2014). O nervo fibular comum inerva o bíceps femoral cabeça curta (DISTAD; WEISS, 2013), o qual se bifurca em nervos fibular superficial e profundo, que inervam os músculos da perna e do pé, com um ramo adicional que contribui para o nervo sural (SAVASTANO et al., 2014).

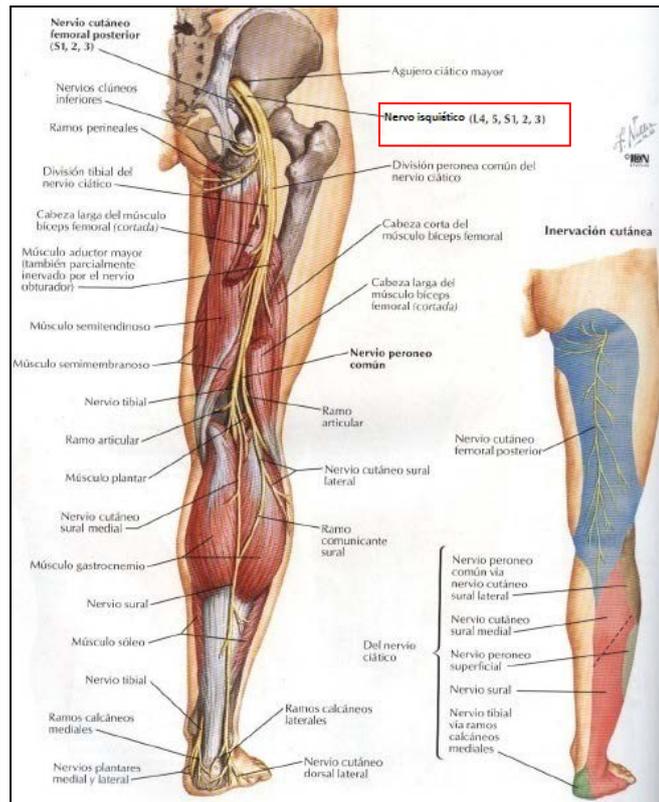


Figura 3 – Desenho esquemático adaptado do nervo isquiático formado pelas raízes de L4 a S3 da medula espinhal (NETTER, 2001).

O que diferencia a estrutura anatômica do nervo isquiático de humanos com o de ratos é a formação desse nervo, pois em ratos começa a partir do segmento L4 até o segmento L6 da medula espinhal. Tendo em comum a divisão do nervo em tibial e fibular comum (Figura 4) (RIGAUD et al., 2008).

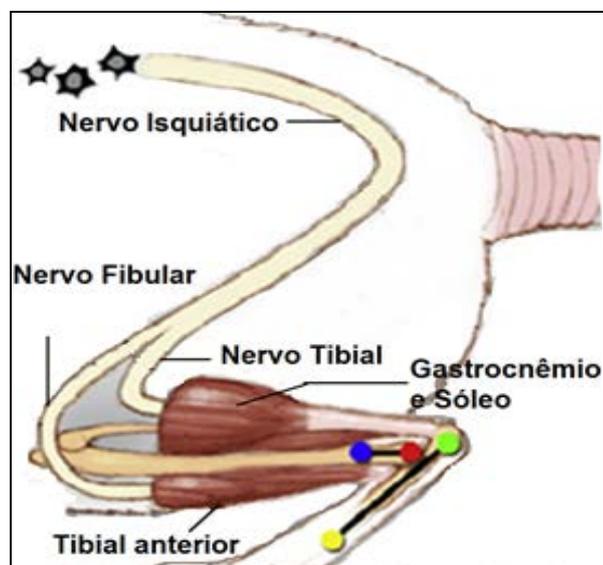


Figura 4 - Estrutura adaptada do nervo isquiático de ratos (DE RUITER et al., 2008).

3.2 Lesões nervosas periféricas: Degeneração e Regeneração

As lesões nervosas periféricas resultam em perda das funções motoras e sensoriais (ALLODI; UDINA; NAVARRO, 2012). Além disso, variam em extensão e em gravidade e podem ser consequência de esmagamento, de compressão e de tração (CAMPBELL, 2008; STAFFORD; PENG; HILL, 2007).

Para classificar o tipo de lesão nervosa periférica existem dois modelos: Seddon (1943) e Sunderland (1978). Segundo o modelo de Seddon (1943), as lesões são classificadas em três tipos: neuropraxia, que é a forma mais branda de lesão do nervo, com leve perda motora e sensitiva, a qual pode ser causada por compressão, sendo que não há ruptura da bainha de mielina; axoniotmese, que é comumente vista em lesões por esmagamento e estiramento, há perda da continuidade axonal e subsequente degeneração Walleriana (degeneração do axônio no segmento distal a lesão), nesse tipo de lesão não ocorre perda da célula de Schwann; e a neurotmese, em que o nervo é seccionado, ou seja, existe a separação completa do nervo em coto proximal e distal, com desorganização do axônio causada por uma fibrose tecidual com consequente interrupção do crescimento axonal. A recuperação não é completa sem intervenção cirúrgica (Figura 5) (SIQUEIRA, 2007).

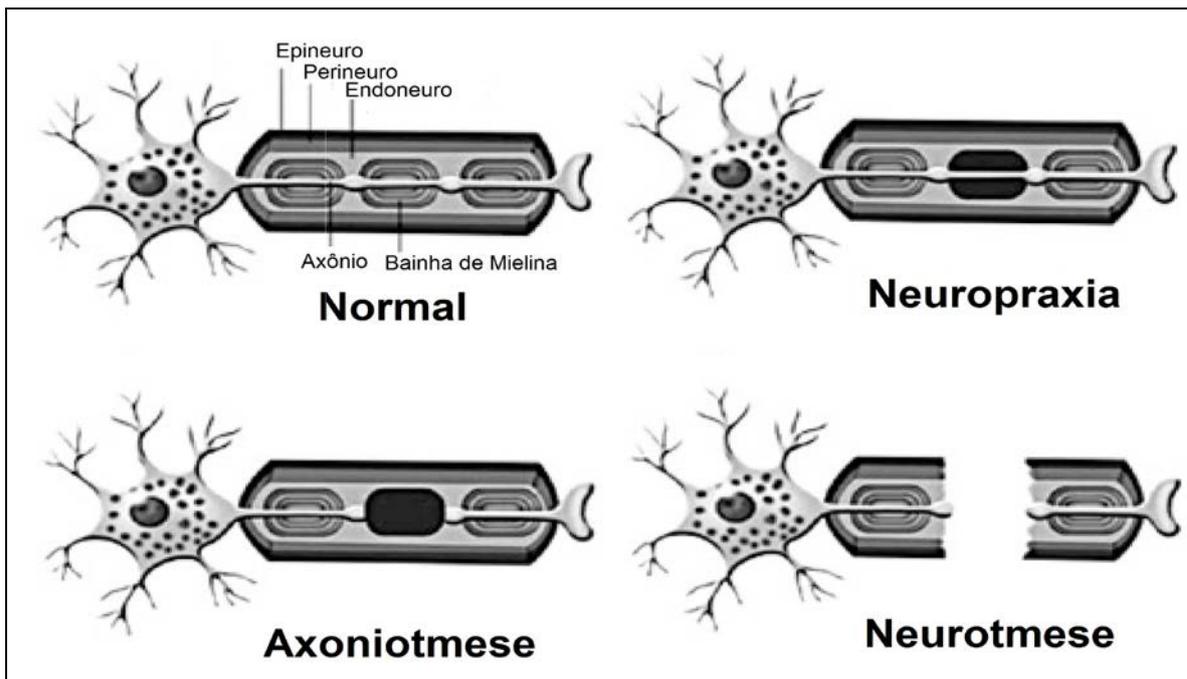


Figura 5 – Classificação da lesão nervosa periférica de acordo com modelo de Seddon (1943). Desenho esquemático adaptado da fibra nervosa normal e os três graus de lesão do nervo: Neuropraxia, axoniotmese e neurotmese (MARTINS et al., 2013).

No modelo de Sunderland (1978), a classificação da lesão é dividida em cinco graus diferentes. A lesão de primeiro grau é semelhante à neuropraxia de Seddon, enquanto uma lesão de segundo grau é equivalente a axoniotmese, a qual é subdividida em mais dois graus de lesão: o terceiro grau que além de ter lesão no axônio há também lesão no endoneuro, e o quarto grau que apresenta lesão no axônio, endoneuro e perineuro. A lesão do quinto grau é semelhante à neurotmese de Seddon, com secção completa do nervo separando-o em coto proximal e distal (Figura 6) (CAMPBELL, 2008).

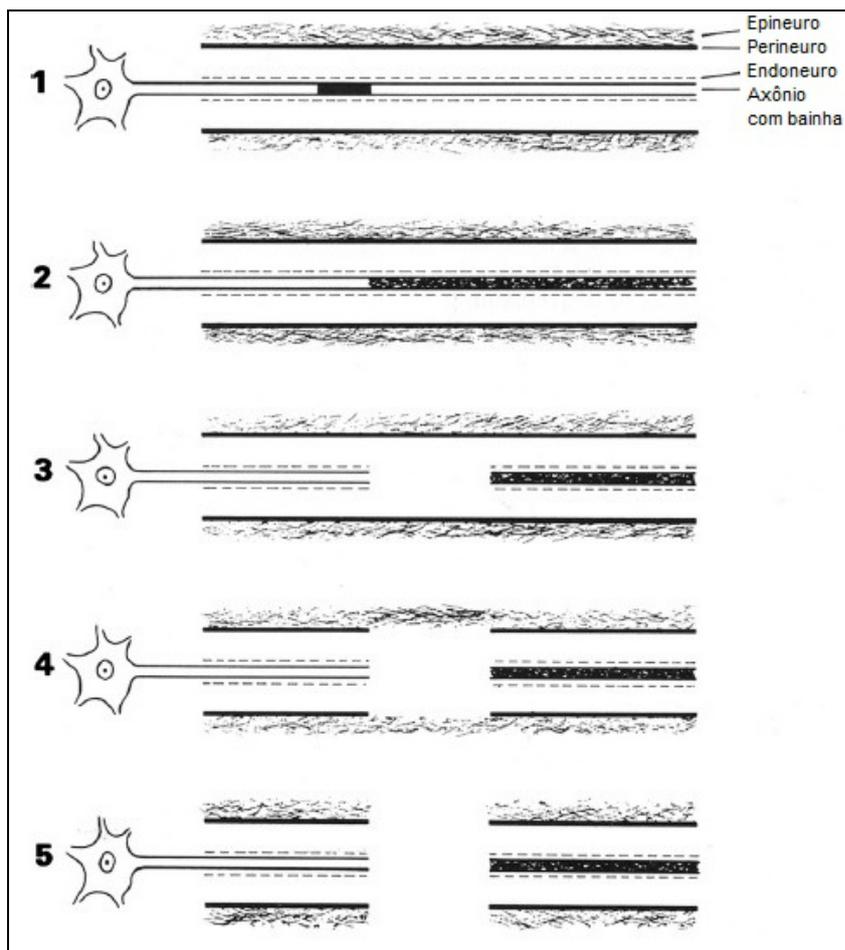


Figura 6 – Classificação da lesão nervosa pelo modelo de Sunderland (1978). A lesão é dividida em cinco graus diferentes. Adaptado de (CAMPBELL, 2008).

Ao ocorrer uma lesão nervosa periférica, como por esmagamento do nervo (axoniotmese), acontece uma série de reações no corpo celular, no local e na região distal à lesão. O processo que ocorre no corpo celular é chamado de cromatólise e tem início nas primeiras horas após o trauma, em que há aumento do volume do corpo celular, deslocamento do núcleo para a periferia, acompanhado de edema (ALLODI; UDINA; NAVARRO, 2012; SIQUEIRA, 2007).

Na região distal, as fibras sofrem degeneração Walleriana em 48-96 horas, um processo que tem como função criar um microambiente favorável ao novo crescimento axonal, e é uma etapa essencial no processo de regeneração (CAMPBELL, 2008). A lesão desencadeia uma cascata de eventos, incluindo a proliferação de células de Schwann, o recrutamento de macrófagos, a reorganização do espaço endoneural, alterações nos componentes da matriz extracelular

endoneural, bem como aumento na produção e na liberação de neurotrofinas e de citocinas (Figura 7) (DUBOVÝ, 2011).

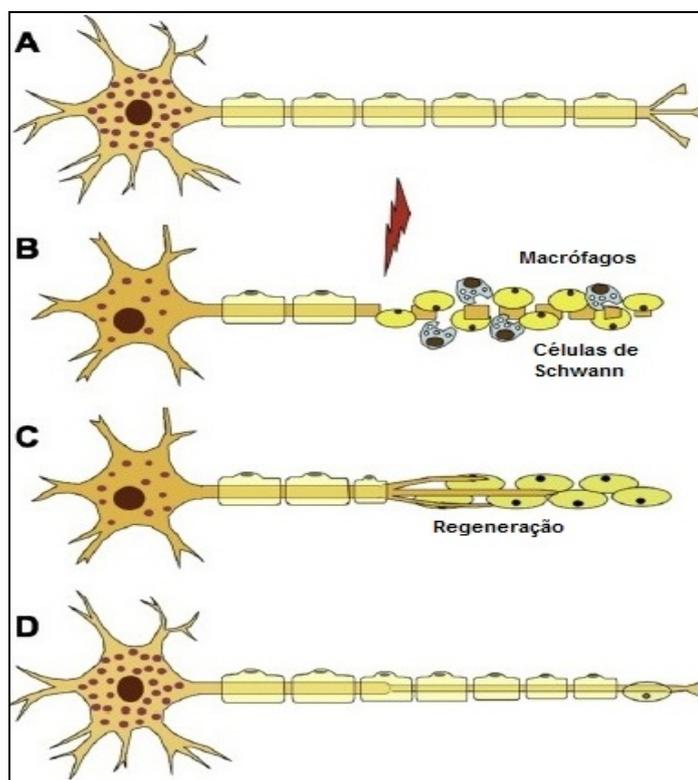


Figura 7 - Degeneração e regeneração após a lesão no nervo periférico. (A) neurônio e fibra nervosa normal. (B) Degeneração Walleriana. As células de Schwann e macrófagos se proliferam e invadem o segmento distal do nervo para fagocitose. (C) Formação das bandas de Büngner. (D) Maturação e remielinização da fibra nervosa. Adaptado de (ALLODI; UDINA; NAVARRO, 2012).

No período pós-lesão, do 2º ao 7º dia, os macrófagos se acumulam no coto distal para realizar a remoção dos restos mielínicos em degeneração. Em três dias, células de Schwann também se proliferam no coto distal e desempenham o papel de fagocitose, além de dividirem-se e de alinharem-se na forma de cordão de células, dentro da lâmina basal, para formar as bandas de Büngner, que permitem o crescimento do axônio. Além disso, as células de Schwann também são responsáveis pela produção de fatores de crescimento, que promovem a sobrevivência e estimulam o crescimento axonal, tais como: fator de crescimento nervoso (NGF) e fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), exercendo função trófica (ALLODI; UDINA; NAVARRO, 2012; SIQUEIRA, 2007).

Mudanças estruturais e funcionais ocorrem também no coto proximal nos primeiros dias ou semanas após a lesão. Nesse local os axônios passam a

produzir um grande número de brotos colaterais e terminais, que irão competir entre si em busca de substâncias tróficas fornecidas pelos órgãos-alvo, que estão no coto distal e, por fim, realizar suas conexões. Em experimentos com animais, verifica-se um crescimento axonal de 3,0 a 4,5 mm/dia em lesões do tipo axoniotmese. Em humanos, a taxa de crescimento axonal não é linear, e se estima que seja de 1 a 2 mm/dia (SIQUEIRA, 2007).

Contudo, essas lesões podem causar danos para a sociedade, não só pelos custos diretos no setor da saúde, mas por reduzir a produção no trabalho, além de diminuir a qualidade de vida por causa da perda parcial ou total das funções sensoriais e motoras (DAHLIN; BRANDT, 2004). Ainda, destaca-se que as lesões mais comuns são as relacionadas com compressões do nervo isquiático, as quais podem causar a cialgia (STAFFORD; PENG; HILL, 2007).

3.3 Cialgia

Dor isquiática ou cialgia, também conhecida como radiculopatia, síndrome radicular lombossacra, dor radicular e compressão, ou irritação de raiz nervosa, é uma dor que irradia para o membro inferior, normalmente abaixo do joelho, na distribuição dos dermatômos de L5 e S1 (KONSTANTINO; DUNN, 2008).

Sua caracterização etiológica inclui síndrome do músculo piriforme, além de diversas afecções mecânicas, congênitas, traumáticas, degenerativas, funcionais, inflamatórias, infecciosas e metabólicas, envolvendo articulações vertebrais, espasmos musculares nas regiões do trajeto do nervo e de seus ramos, estenose do canal lombar ou foraminal, como também por outras razões mais raras, como tumores, cistos ou outras causas extraespinais. Em cerca de 90% dos casos a dor isquiática é causada por uma hérnia de disco, com compressão da raiz nervosa. Clinicamente, na cialgia ocorrem parestesia, redução da força muscular e déficit funcional (KONSTANTINO; DUNN, 2008; PRAVATO; SILVA; BERBEL, 2008; STAFFORD; PENG; HILL, 2007).

A resolução dessa condição depende muito do tipo de abordagem terapêutica. São utilizadas terapias medicamentosas, intervenções médicas não cirúrgicas, cirurgias e tratamentos conservadores que incluem as modalidades fisioterapêuticas (VALAT et al., 2010). Dentre elas, pode-se citar: acupuntura, escolas de coluna, uso de órteses, manipulação vertebral, cinesioterapia,

estabilização da coluna vertebral, pilates, relaxamento e a crioterapia (FRANÇA et al., 2010; VALAT et al., 2010).

3.4 Tratamento com crioterapia

A crioterapia tem sido aceita como uma intervenção eficaz, simples e com valor acessível, sendo um tipo de termoterapia, que utiliza o frio como agente terapêutico. É empregada no processo de reabilitação para minimizar os efeitos negativos da resposta inflamatória (ESPINOZA; BUSTAMANTE; PÉREZ, 2010; HANKS; LEVINE; BOCKSTAHLER, 2015).

No geral, a aplicação local de frio faz com que mudanças ocorram no tecido lesionado. A primeira resposta do organismo é a diminuição da temperatura, que se reduz rapidamente ao colocar o gelo em contato com a pele, e mesmo após sua retirada a resposta ainda permanece (GUIRRO; ABIB; MÁXIMO, 1999; KENNET et al., 2007).

O resfriamento tecidual local leva a uma diminuição do metabolismo celular, proporcionando à célula um menor consumo de oxigênio, de modo que ela consiga sobreviver por um maior período em isquemia, evitando lesão por hipóxia secundária e, conseqüentemente, morte celular. Além disso, uma das principais funções do resfriamento do tecido para o sistema circulatório é a redução do fluxo sanguíneo devido à vasoconstrição, a qual controla a hemorragia decorrente da lesão vascular. Fisiologicamente, a aplicação de gelo também leva a redução da liberação de histamina e da velocidade de condução nervosa. Essas respostas servem para limitar o dano no tecido, além de serem responsáveis por uma série de efeitos terapêuticos atribuídos à crioterapia, como: diminuição da reação inflamatória, da dor e do edema (ALGAFLY; GEORGE, 2007; ESPINOZA; BUSTAMANTE; PÉREZ, 2010; GUIRRO; ABIB; MÁXIMO, 1999; HANKS; LEVINE; BOCKSTAHLER, 2015).

A analgesia por meio da crioterapia pode ocorrer devido a vários mecanismos, incluindo alterações da velocidade de condução nervosa, inibição de nociceptores, redução dos espasmos musculares e/ou uma redução nos níveis de atividade enzimática (ALGAFLY; GEORGE, 2007). Com relação à diminuição da velocidade de condução nervosa, o tratamento inibe a transmissão de sinais de dor para o corno posterior da medula espinal, além de agir como uma substância

irritante nas vias centrais da dor, que ativam as vias descendentes inibitórias, bloqueando também a transmissão ao cérebro. Além disso, o resfriamento faz com que ocorra um aumento na duração do potencial de ação dos nervos sensoriais e, conseqüentemente, um aumento do período refratário, acarretando em uma diminuição na quantidade de fibras que irão despolarizar no mesmo período de tempo. Dessa maneira, há uma diminuição na transmissão do impulso nervoso e na sensibilidade dolorosa, ou seja, aumenta o limiar de excitação das fibras nervosas o que leva a diminuição da dor (CORTI, 2014; GUIRRO; ABIB; MÁXIMO, 1999).

Com relação ao edema, à vasoconstrição e à diminuição da permeabilidade da membrana, devido à aplicação do frio, limitam o extravasamento de fluídos e, conseqüentemente, a sua formação. Além disso, a redução da dor, da inflamação e do edema podem levar ao aumento da amplitude de movimento e melhorar a funcionalidade do membro lesionado (GUIRRO; ABIB; MÁXIMO, 1999; HANKS; LEVINE; BOCKSTAHLER, 2015).

Dentre as formas de aplicação da crioterapia, as mais utilizadas são: pacotes com gelo, massagem com gelo, imersão com água e gelo, sprays e bolsas de gel. No entanto, a mais eficaz no tratamento de lesões é por imersão, em que uma área maior é resfriada em comparação com as outras modalidades, uma vez que toda a superfície do membro está imerso, além de apresentar maior efeito na redução da velocidade de condução nervosa, produzindo o alívio da dor (HERRERA, 2011; KENNET et al., 2007). Vários autores apontam que um tempo aproximado de 20 minutos de crioterapia é eficaz para atingir seus efeitos terapêuticos (ABREU; SANTOS; VENTURA, 2011; CERQUEIRA et al., 2013; FELICE; SANTANA, 2009; MOREIRA et al., 2011).

De acordo com a literatura, existem estudos realizados com ratos que utilizaram a aplicação do frio como recurso terapêutico em diversos tipos de lesão. Brancaccio et al. (2005) realizaram um estudo para verificar a lesão muscular aguda em ratos treinados com natação e em ratos sedentários, que foram ou não submetidos à crioterapia, por meio de bolsa de gelo durante 10 minutos. Concluíram que a crioterapia auxiliou na recuperação de lesão muscular em ratos treinados, por aumentar o número de células de defesa e por diminuir o edema.

Matheus et al. (2008) investigaram o efeito de uma única sessão de crioterapia por imersão, aplicada imediatamente após lesão do músculo

gastrocnêmio de ratas. Os autores verificaram que a crioterapia promoveu a melhora das propriedades mecânicas de carga máxima, alongamento máximo e rigidez do músculo gastrocnêmio.

Moreira et al. (2011) analisaram a influência da crioterapia na nocicepção e no edema em sinovite induzida em ratos. Utilizaram 12 ratos, distribuídos em dois grupos: tratados com crioterapia de imersão durante 20 minutos e o grupo não tratado. A avaliação da nocicepção foi feita pelo teste de incapacidade funcional e o edema pelo paquímetro metálico. Eles concluíram que a crioterapia foi eficaz para reduzir o quadro algico e o edema.

Oliveira, Gava, Salvini (2007) avaliaram o efeito da aplicação da crioterapia e da compressão intermitente na lesão do músculo tibial anterior. Foram realizadas três sessões de crioterapia durante 30 minutos a cada 1h30min, e, por fim, observaram que esse protocolo de tratamento foi eficaz para reduzir a área da lesão muscular.

Apesar de seu uso difundido no tratamento de lesões musculares, há uma escassez de artigos a respeito da crioterapia aplicada no tratamento de lesão nervosa periférica. Mesmo existindo indicações para seu uso, a literatura apresenta contraindicações para sua aplicação em áreas em que o nervo passa superficialmente, pois o contato com o frio intenso poderia causar lesões temporárias como parestesia, disestesia e bloqueio da condução nervosa (ESPINOZA; BUSTAMANTE; PÉREZ, 2010). Contudo, Herrera et al. (2010) salientam que sua utilização geralmente é segura e benéfica, desde que sejam utilizados protocolos e métodos apropriados, além de seu correto monitoramento.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. A. DE; SANTOS, J. D. M. DOS; VENTURA, P. L. Analgesic effectiveness of the association of transcutaneous electrical nerve stimulation and cryotherapy for chronic low back pain. **Revista Dor**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 23–28, jan-mar. 2011.

ALGAFLY, A. A.; GEORGE, K. P. The effect of cryotherapy on nerve conduction velocity, pain threshold and pain tolerance. **British Journal of Sports Medicine**, Loughborough, v. 41, n. 6, p. 365–369, jun. 2007.

ALLODI, I.; UDINA, E.; NAVARRO, X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level. **Progress in Neurobiology**, Oxford, v. 98, n. 1, p. 16–37, jul. 2012.

BAIN, J. . R.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. **Plastic and reconstructive surgery**, Baltimore, v. 83, n. 1, p. 129–138, jan.1989.

BEYREUTHER, B.; CALLIZOT, N.; STÖHR, T. Antinociceptive efficacy of lacosamide in the monosodium iodoacetate rat model for osteoarthritis pain. **Arthritis Research & Therapy**, London, v. 9, n. 1, p. 1–8, jan. 2007.

BRANCACCIO, N.; KLEIN, A. A.; BÖETTCHER, G. A.; COLLA, P. H. S.; MACHADO, D. M.; MOSER, R. G.; SILVA, E. R. Análise de lesão muscular em ratos treinados e sedentários submetidos a crioterapia. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 59–65, jan-mar. 2005.

BRIDGE, P. M.; BALL, D. J.; MACKINNON, S. E.; NAKAO, Y.; BANDT, K; HUNTER, D. A.; HERT, C. Nerve crush injuries - A model for axonotmese. **Experimental Neurology**, New york, v. 127, n. 2, p. 284–290, jun. 1994.

CAMPBELL, W. W. Evaluation and management of peripheral nerve injury. **Clinical Neurophysiology**, Amsterdam, v. 119, n. 9, p. 1951–1965, set. 2008.

CERQUEIRA, M. S.; THIEBAUT, A.; PEREIRA, R.; PEREIRA, L. G. Comparação da temperatura local, após diferentes métodos de resfriamento tecidual. **Revista Brasileira de Ciências da saúde**, São Paulo, v. 11, n. 36, p. 45–49, abr-jun. 2013

CORTI, L. Nonpharmaceutical approaches to pain management. **Topics in**

Companion Animal Medicine, New York, v. 29, n. 1, p. 24–28, mar. 2014.

DAHLIN, L. B.; BRANDT, J. Basic science of peripheral nerve repair : Wallerian degeneration/growth cones. **Operative Techniques in Orthopaedics**, Philadelphia ,v. 14, n. 3, p. 138–145, jul. 2004.

DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L. F. P.. Aspectos fundamentais da experimentação animal em cirurgia experimental. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 56, n. 1, p. 103–111, set. 2010.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia Humana Básica**. 2^a ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

DE RUITER, G. C. W. MALESSY, M. J. A.; ALAID, A. O.; SPINNER, R. J.; ENGELSTAD, J. K.; SORENSON, E. J.; KAUFMAN, K. R.; DYCK, P. J.; WINDEBANK, A.J. Misdirection of regenerating motor axons after nerve injury and repair in the rat sciatic nerve model. **Experimental Neurology**, New York, v. 211, n. 2, p. 339–350, jun. 2008.

DI SCIPIO, F.; RAIMONDO, S.; TOS, P.; GEUNA, S. A simple protocol for paraffin-embedded myelin sheath staining with osmium tetroxide for light microscope observation. **Microscopy research and technique**, New York, v. 71, n. 7, p. 497–502, jul. 2008.

DISTAD, B. J.; WEISS, M. D. Clinical and electrodiagnostic features of sciatic neuropathies. **Physical medicine and rehabilitation clinics of North America**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 107–120, fev. 2013.

DUBOVÝ, P. Wallerian degeneration and peripheral nerve conditions for both axonal regeneration and neuropathic pain induction. **Annals of anatomy**, Jena, v. 193, n. 4, p. 267–275, jul. 2011.

ESPINOZA, H. J. G.; BUSTAMANTE, I. P. L.; PÉREZ, S. J. M. Revisión sistemática sobre el efecto analgésico de la crioterapia en el manejo del dolor de origen músculo esquelético. **Revista de la Sociedad Española del Dolor**, Santiago, v. 17, n. 5, p. 242–252, jun. 2010.

FELICE, T. D.; SANTANA, L. R. Recursos fisioterapêuticos (crioterapia e termoterapia) na espasticidade: revisão de literatura. **Revista Neurociências**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 57–62, 2009.

FONSECA, N. M.; FERREIRA, X. F.; RUZI, R. A.; PEREIRA, G. C. S. Abordagem simplificada do nervo ciático por via posterior, no ponto médio do sulco glúteo-femoral, com uso de neuroestimulador. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 52, n. 6, p. 764–773, nov-dez. 2002.

FRANÇA, F. R.; BRUKE, T. N.; HANADA, E. S.; MARQUES, P. A. Segmental stabilization and muscular strengthening in chronic low back pain - a comparative study. **Clinical Science**, São Paulo, v. 65, n. 10, p. 1013–1017, out. 2010.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em Cores**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

GRØVLE, L.; HAUGEN, A. J.; KELLER, A.; NTVIG, B.; BROX, J. L.; GROTTLE, M. Prognostic factors for return to work in patients with sciatica. **The spine journal : official journal of the North American Spine Society**, New York, v. 13, n. 12, p. 1849–1857, dez. 2013.

GUIRRO, R.; ABIB, C.; MÁXIMO, C. Os efeitos fisiológicos da crioterapia: Uma revisão. **Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 164–170, jul-dez. 1999.

HANKS, J.; LEVINE, D.; BOCKSTAHLER, B. Physical agent modalities in physical therapy and rehabilitation of small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 45, n. 1, p. 29–44, jan. 2015.

HERRERA, E.; SANDOVAL, M. C.; CAMARGO, D. M.; SALVINI, T. F. Motor and sensory nerve conduction are affected differently by ice pack, ice massage, and cold water immersion. **Physical therapy**, Albany, v. 90, n. 4, p. 581–591, abr. 2010.

HERRERA, E.; SANDOVAL, M. C.; CAMARGO, D. M.; SALVINI, T. F. Effect of walking and resting after three cryotherapy modalities on the recovery of sensory and motor nerve conduction velocity in healthy subjects. **Revista brasileira de fisioterapia**, São Carlos, v. 15, n. 3, p. 233–40, mai-jun. 2011.

HILDRETH, C. J.; LYNN, C.; GLASS, R. M. Sciatica. **JAMA: the Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 302, n. 2, p. 216, jul. 2009.

HOUDEK, M. T.; SHIN, A. Y. Management and complications of traumatic peripheral nerve injuries. **Hand Clinics**, Philadelphia, v. 31, n. 2, p. 151–163, mai. 2015.

IRINTCHEV, A. Potentials and limitations of peripheral nerve injury models in rodents with particular reference to the femoral nerve. **Annals of anatomy**, Jena, v. 193, n. 4, p. 276–285, jul. 2011.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Basica - Texto e Atlas**. 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KENNET, J. HARDAKER, N.; HOBBS, S.; SELFE, J. Cooling efficiency of 4 common cryotherapeutic agents. **Journal of Athletic Training**, Dallas, v. 42, n. 3, p. 343–348, jul-set. 2007.

KONSTANTINOOU, K.; DUNN, K. M. Sciatica: review of epidemiological studies and prevalence estimates. **Spine**, Hagerstown, v. 33, n. 22, p. 2464–2472, out. 2008.

LIS, A. M.; BLACK, K. M.; KORN, H.; NORDIN, M. Association between sitting and occupational LBP. **European spine journal**, Heidelberg, v. 16, n. 2, p. 283–298, fev. 2007.

MARTINS, R. S.; BASTOS, D.; SIQUEIRA, M. G.; HEISE, C. O.; TEIXEIRA, M. J. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 71, n. 10, p. 811–4, out. 2013.

MATHEUS, J. P. C. MILANI, J. G. P. O.; GOMIDE, L. B.; VOLPON, J. B.; SHIMANO, A. C. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Niterói, v. 14, n. 4, p. 372–375, jul-ago. 2008.

MEDINACELI, L.; FREED, W. J.; WYATT, R. J. An index of the functional based on measurements condition of rat sciatic nerve made from walking tracks. **Experimental Neurology**, New York, v. 77, n. 3, p. 634–643, set. 1982.

MONTE-RASO, V. V. et al. Esteira com velocidade controlada para captação da marcha. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 49–53, jan. 2010.

MOREIRA, N. B. et al. A influência da crioterapia na dor e edema induzidos por sinovite experimental. **Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 79–83, jan-mar. 2011.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana**. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

OLIVEIRA Jr, J. O.; LAGES, G. V. Ozonioterapia em lombociatalgia. **Revista Dor**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 261–270, jul-set. 2012.

OLIVEIRA, N. M. L.; GAVA, A. D.; SALVINI, T. F. O efeito da crioterapia e compressão interminente no músculo lesado de ratos: uma análise morfométrica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n. 5, p. 403–409, set-out. 2007.

PRAVATO, E. C.; SILVA, J. F.; BERBEL, A. M. Relação da síndrome do piriforme e da dor isquiática na avaliação fisioterapêutica. **Fisioterapia em Movimento**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 105–114, jan-mar. 2008.

RIGAUD, M. GEMES, G.; BARABAS, M. E.; CHERNOFF, D. I.; ABRAM, S. E.; STUCKY, C. L.; HOGAN, Q. H. Species and strain differences in rodent sciatic nerve anatomy: Implications for studies of neuropathic pain. **Pain**, Amsterdam, v. 136, n. 1-2, p. 188–201, mai. 2008.

SAVASTANO, L. E.; LAUTIRO, S. R.; FITT, M. R.; RASMUSSEN, J. A.; POLO, V. G. PATTERSON, S. I. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. **Journal of Neuroscience methods**, Amsterdam, v. 227, p. 166–180, 30 abr. 2014.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain: a journal of neurology**, london, v. 66, p. 237-288, 1943.

SIQUEIRA, R. Lesões nervosas periféricas : uma revisão. **Revista Neurociências**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 226–233, jan. 2007.

SUNDERLAND, S. **Nerve and nerve injuries**. 2^a ed. London: Churchill-Livingston, 1978.

SLUKA, K. A. CHRISTY, M. R.; PETERSON, W. L.; RUDD, S. L.; TROY, S. M. Reduction of pain-related behaviors with either cold or heat treatment in an animal model of acute arthritis. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, Philadelphia, v. 80, n. 3, p. 313–317, mar. 1999.

STAFFORD, M. A; PENG, P.; HILL, D. A. Sciatica: a review of history, epidemiology, pathogenesis, and the role of epidural steroid injection in management. **British journal of anaesthesia**, v. 99, n. 4, p. 461–473, out. 2007.

TONUSSI, C. R.; FERREIRA, S. H. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. **Pain**, v. 48, n. 3, p. 421–427, 1992.

VALAT, J.-P. et al. Sciatica. **Best practice & research. Clinical rheumatology**, v. 24, n. 2, p. 241–252, abr. 2010.

WOOD, M. D. et al. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. **Annals of anatomy**, v. 193, n. 4, p. 321–333, jul. 2011.

5 ARTIGO CIENTÍFICO 1:

AVALIAÇÃO DA NOCICEPÇÃO E EDEMA EM MODELO EXPERIMENTAL DE COMPRESSÃO DO NERVO ISQUIÁTICO DE RATOS *WISTAR*, TRATADOS COM CRIOTERAPIA.

Submetido à Revista Dor (normas anexo B).

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=1806-0013&lng=pt&nrm=iso

AVALIAÇÃO DA NOCICEPÇÃO E EDEMA EM MODELO EXPERIMENTAL DE COMPRESSÃO DO NERVO ISQUIÁTICO EM RATOS *WISTAR*, TRATADOS COM CRIOTERAPIA.

ASSESSMENT OF NOCICEPTION AND EDEMA IN EXPERIMENTAL MODEL SCIATIC NERVE COMPRESSION IN *WISTAR* RATS, TREATED WITH CRYOTHERAPY.

Jhenifer Karvat¹, Camila Mayumi Martin Kakihata¹, Lizyana Vieira¹, Juliana Sobral Antunes¹, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro¹, Gladson Ricardo Flor Bertolini¹.

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Mestrado de Biociências e Saúde, Cascavel, PR, Brasil

Endereço para correspondência:

Gladson Ricardo Flor Bertolini

Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da UNIOESTE
Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário 85819-110. Cascavel, PR, Brasil.

E-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br

Estudo realizado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Resumo

Justificativa e Objetivos: Considerando a carência de estudos a respeito da crioterapia como tratamento de lesão nervosa periférica, este estudo teve como objetivo avaliar a nocicepção e o edema em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*, tratados com crioterapia. **Métodos:** Foram utilizados 42 ratos separados aleatoriamente nos grupos: G1 – controle, eutanasiado no 15º pós-operatório (PO); G2, G3 e G4 – submetidos à compressão do nervo isquiático, eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO, respectivamente; G5, G6 e G7 – submetidos à compressão do nervo isquiático e tratados com crioterapia, eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO, respectivamente. As avaliações da nocicepção no local da lesão e na região plantar e a verificação do edema aconteceram nos momentos pré-lesão, 2º PO e no dia correspondente a eutanásia de cada grupo lesionado. A análise estatística foi pela ANOVA mista, com nível de significância de 5%. **Resultados:** No local da lesão houve diminuição do limiar nos grupos lesionados, entretanto, apresentou aumento do mesmo nos grupos relacionados às avaliações do 8º e 15º PO. Já a nocicepção realizada na região plantar foi semelhante a anterior, porém o limiar não aumentou. Com relação ao edema houve diferença significativa na avaliação realizada no 3º PO e no 2º PO, correspondente ao G1, G4 e G7, que apresentaram valores maiores comparadas com a pré-lesão. **Conclusão:** A crioterapia não auxiliou no aumento do limiar nociceptivo e redução de edema.

Descritores: Edema, Mensuração da dor, Modalidades de fisioterapia, Nervo isquiático, Traumatismos dos nervos periféricos.

Abstract

Background and Objectives: Considering the lack of studies on cryotherapy as a treatment for peripheral nerve injury, this study aimed to evaluate nociception and edema in an experimental model of sciatic nerve compression in rats treated with cryotherapy. **Methods:** 42 rats were randomly divided in groups: G1 - control euthanized on the 15th postoperative day (PO); G2, G3 and G4 - submitted to sciatic nerve compression, euthanized at 3rd, 8th and 15th PO, respectively; G5, G6 and G7 - submitted to sciatic nerve compression and treated with cryotherapy, euthanized at 3rd, 8th and 15th PO, respectively. Evaluations of nociception at the injury site and in the plantar region and the verification of edema occurred in the pre-injury moments, 2nd PO and the corresponding day euthanasia of injured each group. Statistical analysis was by ANOVA mixed with 5% significance level. **Results:** At the site of injury was decreased threshold in the injured group, however, showed an increase of the threshold in the groups related to the assessments of 8th and 15th PO. Nociception already held in the plantar region was similar to the previous one, but the threshold did not increase. Regarding the edema, there was a significant difference in the evaluation conducted on the 3rd PO and 2nd PO, corresponding to the G1, G4 and G7, which were higher compared with the pre-injury. **Conclusion:** Cryotherapy does not help in increasing nociceptive threshold and edema reduction.

Key Words: Edema; Pain Measurement; Physical Therapy Modalities; Sciatic Nerve Peripheral Nerve Injuries.

Introdução

Os nervos periféricos são alvo de lesões por esmagamento, compressão e transecção. Dentre as lesões nervosas mais comuns nos membros inferiores está a do nervo isquiático, o que acarreta em perda funcional, sensorial e motora, a qual causa um impacto permanente sobre o paciente e sua capacidade de realizar atividades da vida diária¹⁻³.

Além disso, logo após a lesão nervosa ocorre uma resposta inflamatória que resulta na infiltração de células como macrófagos e produção de substâncias químicas as quais contribuem para propagação do processo inflamatório, que gera alterações na permeabilidade vascular e no fluxo sanguíneo local, a qual desencadeia um quadro de hiperalgesia e edema^{4,5}.

Desta maneira, com o intuito de acelerar a recuperação dos nervos periféricos lesionados têm sido propostas diversas formas de tratamentos, e dentre estas se destacam as modalidades fisioterapêuticas como a crioterapia, que é a aplicação terapêutica do frio, a qual apresenta efeitos fisiológicos como redução do fluxo sanguíneo, do metabolismo e da velocidade de condução nervosa, que resultam na diminuição da reação inflamatória, da dor e retardo na formação de edema^{6,7}.

A aplicação da crioterapia pode ser realizada por meio de pacotes de gelo, massagem com gelo, sprays e pela imersão, sendo que esta última resfria uma área maior em comparação com outras modalidades, sendo que um tempo aproximado de 20 minutos de crioterapia é eficaz para se atingir efeitos terapêuticos⁷.

Entretanto, apesar das indicações, a literatura apresenta contraindicações ao uso da crioterapia, em áreas nas quais o nervo é superficial, o que poderia causar lesões temporárias⁶. Então, devido à lesão nervosa periférica causar impacto nas atividades de vida diária do paciente, da carência de estudos a respeito da crioterapia como tratamento em lesões nervosas periféricas, da divergência sobre sua utilização, mas que poderia ser benéfica por minimizar a dor e edema, justifica-se o estudo com tal abordagem.

Diante do exposto, o objetivo foi avaliar a nocicepção e o edema em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos Wistar, tratados com crioterapia.

Materiais e métodos

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa quantitativa, experimental e randomizada. A amostra foi composta por 42 ratos da linhagem Wistar, machos, com peso médio de $327 \pm 24,84$ g e idade média de 10 semanas, os quais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), e mantidos no Biotério setorial do Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h, recebendo água e ração *ad libitum*.

Os animais foram separados aleatoriamente em sete grupos:

- Grupo 1 (G1, n=6) – controle, composto por animais que não foram submetidos a compressão nervosa e crioterapia, eutanasiados no 15º dia após início do experimento;
- Grupo 2 (G2, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 3º pós-operatório (PO);
- Grupo 3 (G3, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 8º PO;
- Grupo 4 (G4, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 15º PO;
- Grupo 5 (G5, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 3º PO;
- Grupo 6 (G6, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 8º PO;
- Grupo 7 (G7, n=6) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 15º PO.

Modelo experimental de compressão do nervo isquiático

Inicialmente os animais foram mantidos no LELRF durante duas semanas para adaptação ao local de estudo. Previamente ao procedimento cirúrgico de compressão do nervo isquiático os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de cetamina (95 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (12 mg/Kg) por via intraperitoneal. Após a aplicação da anestesia e a verificação do estado de

consciência do animal (observado pela ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e das pregas interdigitais), os animais foram posicionados em decúbito ventral e foi realizada a tricotomia no local do procedimento cirúrgico.

Em seguida foi realizada uma incisão paralela às fibras do músculo bíceps femoral, expondo o nervo isquiático do membro pélvico direito, com subsequente compressão do mesmo, com o auxílio de pinça hemostática, por um período de 30 segundos, com a finalidade de reproduzir dor no trajeto do mesmo. A pressão de pinçamento foi padronizada para todos os animais, realizado pelo mesmo indivíduo, utilizando-se como referência o fechamento do segundo dente da cremalheira⁸ (apêndice A). Por fim, foi realizada a sutura externa com fio catgut 4.0, aplicado iodo sobre a incisão e os animais foram alojados nas mesmas condições pré-cirúrgicas, separados de acordo com o seu grupo experimental.

Protocolo de tratamento

Para a realização do tratamento, os animais foram contidos manualmente e o membro pélvico direito colocado imerso em recipiente de 1.440 cm³ (20 cm x 12 cm x 6 cm), contendo água e gelo, em temperatura de $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 20 minutos⁹ (apêndice A). Nos grupos G5, G6 e G7 o tratamento ocorreu logo após término do procedimento cirúrgico. Assim, em G5 foi realizada uma única sessão de tratamento e, para G6 e G7, o tratamento continuou do 3^o dia de PO e terminou no 7^o dia PO. Os animais de G2, G3 e G4 também foram posicionados de acordo com o protocolo de tratamento, embora o recipiente não contivesse água e gelo.

Avaliação da nocicepção

A avaliação da nocicepção foi por meio do filamento de Von Frey digital¹⁰. O teste foi realizado com o animal contido manualmente e a ponteira do equipamento aplicada na região do procedimento cirúrgico no membro pélvico direito. A ponta de polipropileno foi aplicada perpendicularmente à área, com gradual aumento de pressão, e logo que o animal retirou a pata o teste foi interrompido para o registro do limiar de retirada. O estímulo foi aplicado também na região plantar do membro acometido e, para isso, o animal foi mantido em caixa elevada com piso de tela, assim o filamento foi posicionado e realizada pressão até a retirada do membro pélvico direito (apêndice A).

Esta avaliação foi realizada nos seguintes momentos: pré-lesão, no 2º PO e no dia correspondente a eutanásia de cada grupo lesionado, sendo que o G1 (controle) foi avaliado nos mesmos momentos que os grupos submetidos à lesão, porém com eutanásia no 15º dia após início do experimento. Os dados do limiar de retirada foram apresentados baseados na média dos animais do grupo.

Avaliação do edema

O edema foi avaliado pela alteração volumétrica de líquidos por meio do hidropletismômetro de pata da marca Insight®. Neste teste, o membro pélvico direito foi colocado em um recipiente com água, até a imersão completa da articulação do tornozelo, sendo o deslocamento de água graduado (apêndice A). Esta avaliação ocorreu imediatamente após a avaliação da nocicepção, nos mesmos momentos.

Análise estatística

Os resultados foram analisados com auxílio do programa SPSS 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences). A comparação entre os grupos e avaliações, foi realizada entre o grupo controle, lesão e lesão com crioterapia, eutanasiados no mesmo PO. Para a normalidade dos dados foi utilizado o teste Shapiro-Wilk e, constatando-se esta, foi aplicado o teste estatístico ANOVA modelo misto, com nível de significância aceito de $\alpha=0,05$.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE (15/07/2014).

Resultados

Nocicepção no local da lesão

A análise da nocicepção realizada no local da lesão, em G1, G2 e G5 mostrou diferença significativa [$F(2;30)=40,2;p<0,001$], sendo o valor do limiar em G2 e G5 menor que G1; além da diferença entre as avaliações, em que a realizada

no 2º e 3º PO apresentaram limiares menores comparado com a pré-lesão (Figura 1A).

G1, G3 e G6 também apresentaram diferença estatística [$F(2;30)=18,8;p<0,001$], sendo que G3 e G6 mostraram valores menores comparados a G1, além da avaliação pré-lesão apresentar limiar maior que a realizada no 2º PO, enquanto esta teve limiar menor que a do dia da eutanásia (8ºPO) (Figura 1B).

Com relação a G1, G4 e G7, houve diferença estatística [$F(2;30)=33,7;p<0,001$], sendo que G4 e G7 apresentaram limiares menores comparado com G1, além de diferença significativa entre a avaliação pré-lesão que obteve valores maiores que a do 2º PO e esta com valores menores que a avaliação do dia da eutanásia (15º PO) (Figura 1C). Tais resultados apresentaram ausência de efeitos antinociceptivos para os grupos tratados.

(Entra figura 1)

Nociceção na região plantar

De acordo com o resultado da nociceção realizada na pata, G1, G2 e G5, apresentaram diferença [$F(2;30)=22,6;p<0,001$]. O limiar de G2 e G5 foi estatisticamente menor que G1, o mesmo ocorreu com a avaliação do 2º e 3º PO comparada a pré-lesão (Figura 2A).

Ao comparar os valores de G1, G3 e G6, também houve diferença [$F(2;30)=43,4;p<0,001$]. Em que G3 e G6 apresentaram limiares menores que G1, e a avaliação do 2º e 8º PO obtiveram limiar menor comparada com a pré-lesão (Figura 2B).

Ao analisar G1, G4, G7 e as avaliações pré-lesão, 2º PO e do dia da eutanásia (15º PO), mostraram que G4 e G7 assim como avaliação do 2º e 15º PO apresentaram limiares menores que G1 e a avaliação pré-lesão, sendo representado pela estatística [$F(2;30)=23,6;p<0,001$] (Figura 2C). Novamente, observou-se ausência de efeitos da crioterapia.

(Entra figura 2)

Edema

De acordo com a avaliação do edema, realizada em G1, G2 e G5, houve diferença significativa [$F(2;30)=4,3;p=0,023$], entre a avaliação do 3º PO, que apresentou valores maiores, comparada com a pré-lesão (Figura 3A).

Ao analisar o resultado de G1, G3 e G6, verificou-se que não houve diferença significativa, tanto entre os grupos como entre as avaliações. Sendo estatística [$F(1,7;30)=3,3;p>0,05$] (Figura 3B).

Já ao observar os dados relacionados ao G1, G4 e G7, houve diferença estatística entre a avaliação do 2º PO, que apresentou valores maiores comparado com a avaliação pré-lesão, sendo representado por [$F(2;30)=8,5;p=0,01$] (Figura 3C). Sem efeitos da crioterapia para a redução do edema.

(Entra figura 3)

Discussão

A lesão nervosa periférica causa déficit sensitivo e motor, o que promove a diminuição da qualidade de vida com consequências econômicas e sociais para população, e dentre os problemas causados por esta lesão pode ser incluído o processo inflamatório com dor e edema¹¹. Desta maneira, para compreender os prejuízos causados por esta lesão, e minimizar essas lesões utilizando recursos terapêuticos, são realizados estudos com animais mais especificamente o rato, pois apresenta estrutura e resposta de lesão semelhante à encontrada em nervos humanos¹². Por isso, o presente estudo avaliou a nocicepção e o edema de ratos submetidos ao modelo de compressão do nervo isquiático, os quais foram ou não tratados com crioterapia, a qual pode auxiliar na diminuição da dor e edema¹³.

A nocicepção é definida como o processo neural de codificação e processamento de estímulos nocivos, ou seja, inclui mecanismos pelos quais os estímulos dolorosos são detectados pelo sistema nervoso periférico, codificados, transferidos e tratados inconscientemente pelo sistema nervoso central. Desta maneira, os “teste de dor” realizados em animais são conhecidos como testes

nociceptivos¹⁴, como o utilizado neste estudo pelo analgesímetro digital tipo filamento de Von frey.

No presente estudo houve diminuição do limiar nos grupos lesionados, independente do tratamento, quando o analgesímetro foi aplicado na região plantar do membro pélvico direito. Quando o analgesímetro foi aplicado no local da lesão, houve aumento do limiar nos grupos avaliados no 8º e 15º PO, indicando que recuperação dos níveis nociceptivos locais, mas, não para a alodínea, verificada na região plantar. Acreditava-se que a crioterapia poderia ter auxiliado na analgesia, devido à diminuição da velocidade de condução nervosa, inibindo a transmissão dos sinais de dor ao corno posterior da medula espinal, além de atuar como um mecanismo contra irritante, pelo qual a transmissão de dor ao sistema nervoso central é bloqueada^{13,15}, contudo tais resultados não foram observados.

Com relação a avaliação do edema, estudos mostram que a crioterapia pode diminuir o mesmo em caso de lesão. Em um trabalho experimental, com ratos submetidos à sinovite no joelho direito e tratados com crioterapia de imersão durante 20 minutos à 5°C, foi avaliado o edema por meio de paquímetro metálico e a nocicepção pelo tempo de elevação da pata, sendo que o tratamento foi eficaz para minimizar o edema e a nocicepção dos animais⁹. Em outro estudo o edema foi induzido na pata de ratas, o qual foi tratado tanto por correntes diadinâmicas de Bernard (CDB) como por crioterapia. Na avaliação por hidropletismografia verificou-se que ambas as formas de tratamento foram significativamente eficazes para reduzir o edema, sendo que não houve diferença entre elas¹⁶. Todavia, a forma de lesões descritas não foi causada por compressão de nervos periféricos, conforme o realizado no presente estudo.

Neste estudo, o modelo de compressão nervosa produziu edema nos grupos avaliados no 3º PO, mostrando que G2 e G5 apresentaram alteração no volume de líquido maior que a avaliação realizada na pré-lesão, e a crioterapia não foi eficaz para minimizar o edema. Além disso, os grupos relacionados ao 15º PO também apresentaram edema na avaliação do 2º PO, sendo que G4 e G7 se comportaram de maneira semelhante durante as avaliações. Entretanto, sugere-se que houve redução com relação à última avaliação, pois os valores diminuíram mesmo não sendo significativo, o que também pode ter auxiliado no aumento do limiar nociceptivo no local da lesão, visto que a analgesia pode ocorrer pela redução do

edema⁶. De acordo com os grupos G3 e G6, eles comportaram-se de maneira parecida em todos os momentos, sem diferença significativa. Salienta-se que inicialmente, apesar de não existir diferenças entre os grupos, G1 mostrou médias superiores as dos outros grupos, mas, tal variação foi ocasional, podendo ter ocorrido por diferenças do volume dos membros dos animais apenas, ou por dificuldades técnicas para realização da avaliação, visto que os animais (exceto no momento da lesão e prévio à eutanásia) não eram anestesiados, ou seja, movimentavam-se apenas sendo levemente restritos pelo manuseio, inclusive durante o tratamento com crioterapia.

Contudo, apesar de este estudo apresentar que o tratamento com crioterapia não teve efeito sobre a lesão nervosa periférica, na busca da literatura não foi encontrado estudos semelhantes, visando auxiliar na discussão. Desta maneira, sugere-se a realização de novas pesquisas, abordando análises histológicas e moleculares, para verificar a eficácia da crioterapia sobre a lesão nervosa, dando base para pesquisas e tratamentos com humanos.

Conclusão

A compressão nervosa diminuiu o limiar nociceptivo e gerou aumento no volume das patas dos animais momentaneamente, sendo que o tratamento com a crioterapia não produziu efeitos tanto para a nocicepção quanto para o edema.

Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado e Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelos recursos financeiros do projeto.

Referências Bibliográficas

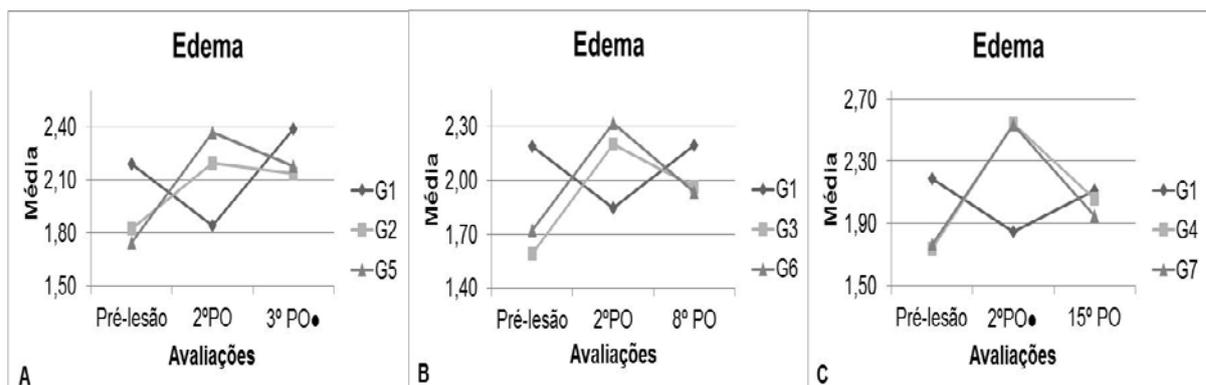
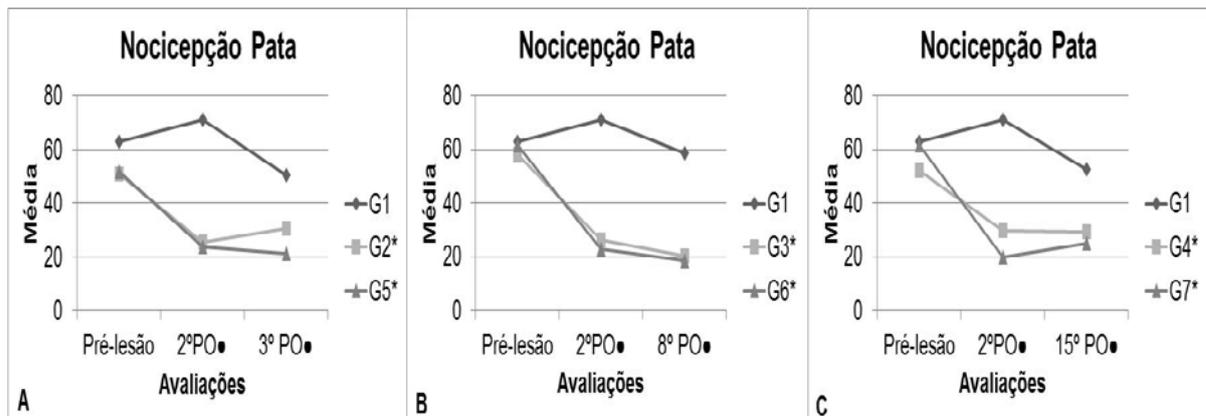
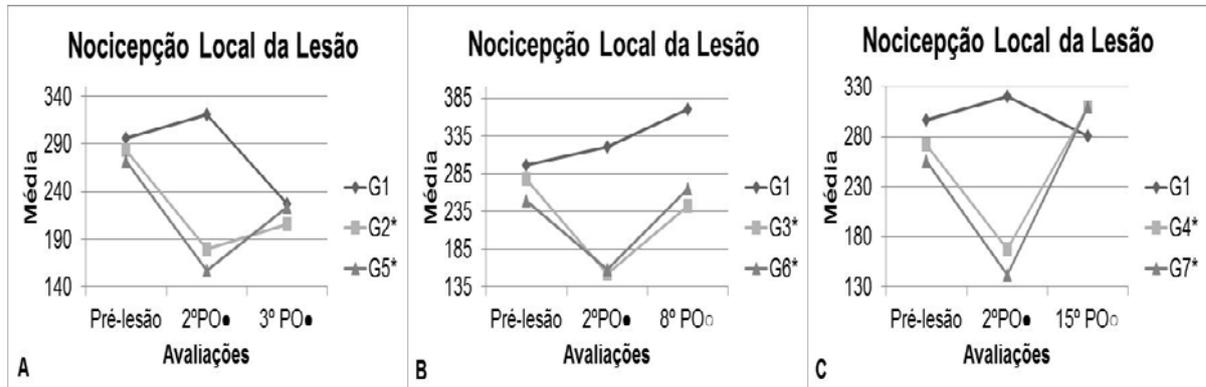
1. Craig A. Entrapment neuropathies of the lower extremity. *PMR*. 2013;5(5 Suppl):31–40.
2. Wood MD, Kemp SWP, Weber C, Borschel GH, Gordon T. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. *Ann Anat*. 2011;193(4):321–33.

3. Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid, AJ. Peripheral nerve regeneration: Experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;82-83: 160–167.
4. Dubový P. Wallerian degeneration and peripheral nerve conditions for both axonal regeneration and neuropathic pain induction. *Ann Anat.* 2011;193(4):267–275.
5. Rocha APC, Kraychete DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros GAM, Garcia JAM, et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anestesiol* 2007;57(1):94–105.
6. Espinoza HJG, Bustamante IPL, Pérez SJM. Revisión sistemática sobre el efecto analgésico de la crioterapia en el manejo del dolor de origen músculo esquelético. *Rev Soc Esp Dolor.* 2010;17(5):242–52.
7. Hanks J, Levine D, Bockstahler B. Physical agent modalities in physical therapy and rehabilitation of small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2015;45(1): 29–44.
8. Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, et al. Nerve crush injuries - a model for axonotmese. *Exp Neurol.* 1994;127(2):284–90.
9. Moreira NB, Artifon EL, Meireles A, Silva LI, Rosa CT, Bertolini GRF. A influência da crioterapia na dor e edema induzidos por sinovite experimental. *Fisioter Pesqui.* 2011;18(1):79–83.
10. Vivancos GG, Verri Jr WA, Cunha TM, Schivo IRS, Parada CA, Cunha FQ, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(3):391-9.
11. Sebben AD, Lichtenfels M, Silva JLB. Regeneração de nervos periféricos: terapia celular e fatores neurotróficos. *Rev Bras Ortop.* 2011;46(6):643–9.
12. Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, Rasmussen JA, Polo VG, Patterson SI. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. *J Neurosci Methods.* 2014;227:166–80.
13. Corti L. Nonpharmaceutical approaches to pain management. *Top companion Anim Med.* 2014;29(1):24–8.
14. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience.* 2012;211(1):39–50.
15. Gosling AP. Mecanismos de ação e efeitos da fisioterapia no tratamento da dor. *Rev Dor.* 2013;13(1):65–70.
16. Oda JY, Garnés FLS, Martins AJ, Takemura OS. Efeitos da crioterapia vs

correntes diadinâmicas na redução do edema de pata em ratas. Arq Ciênc Saúde UNIPAR. 2014;18(2):107–11.

FIGURAS:

G1 (controle), G2, G3 e G4 (submetidos a lesão sem crioterapia) e G5, G6 e G7 (submetidos a lesão com crioterapia).



5.1 APÊNDICE A



Figura 1 – Exposição do nervo isquiático com compressão do mesmo, por meio de pinça hemostática (Fonte: autora).



Figura 2 - Membro pélvico direito do animal imerso em recipiente com água e gelo (Fonte: autora).



Figura 3 – Analgesímetro digital tipo filamento de Von Frey (Fonte: autora).



Figura 4 – Animal contido manualmente para a aplicação do filamento na região do procedimento cirúrgico (Fonte: autora).



Figura 5 – **A:** Caixa com piso de tela. **B:** Ponta do filamento na região plantar do membro pélvico direito (Fonte: autora).



Figura 6 - Hidropletismômetro de pata da marca insight[®], para avaliar o edema (Fonte: autora).



Figura 7 – Posicionamento do membro lesionado (direito) dentro de um recipiente com água, para graduar o deslocamento de água (Fonte: autora).

6 ARTIGO CIENTÍFICO 2:

Efeito da crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*: Análise funcional e morfológica.

Será submetido à Revista Brasileira de Reumatologia (normas anexo C).

http://www.scielo.br/scielo.php/script_sci_serial/Ing_pt/pid_0482-5004/nrm_iso

Título do artigo: Efeito da crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*: Análise funcional e morfológica.

Jhenifer Karvat¹, Lizyana Vieira², Camila Mayumi Martin Kakihata¹, Juliana Sobral Antunes¹, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro³, Rose Meire Costa Brancalhão⁴, Gladson Ricardo Flor Bertolini⁵.

¹Mestranda do programa de Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

²Mestre pelo programa de Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

³Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) pela Universidade Estadual de Maringá.

⁴Pós-Doutorado em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Maringá.

⁵Doutor em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Universidade de São Paulo.

Departamentos e instituição: Laboratório de estudo das lesões e recursos fisioterapêuticos e laboratório de biologia estrutural e funcional da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

Endereço para correspondência:

Gladson Ricardo Flor Bertolini

Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da UNIOESTE

Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário 85819-110. Cascavel, PR, Brasil.

E-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br

Não existe conflito de interesse.

Agências Financiadoras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado e Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelos recursos financeiros do projeto.

Título Resumido: Crioterapia em modelo de compressão do nervo isquiático.

Resumo

Objetivo: Avaliar o efeito da crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*, por meio de análise funcional e morfológica.

Métodos: Foram utilizados 42 ratos, sendo 6 animais por grupo: G1 – controle, eutanasiado no 15º pós-operatório (PO); G2, G3 e G4 – submetidos à compressão do nervo isquiático, eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO, respectivamente; G5, G6 e G7 – submetidos à compressão do nervo isquiático e tratados com crioterapia, eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO, respectivamente. As avaliações do índice funcional do isquiático e teste de incapacidade funcional aconteceram nos momentos pré-lesão, 2º PO e no dia correspondente a eutanásia de cada grupo lesionado. Após o período de intervenção, os animais foram devidamente anestesiados, foi dissecado e coletado o nervo isquiático distal ao procedimento de compressão para análise morfológica. A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA mista, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Houve diminuição do IFC após a lesão e o teste de incapacidade funcional mostrou aumento do tempo de elevação da pata. Com relação à análise morfológica, G1 apresentou fibras nervosas com aspecto morfológico normal, e nos grupos lesionados houve degeneração nervosa, sendo que G6 apresentou uma discreta recuperação das fibras nervosas, além de apresentar leve regeneração no G4 e G7. **Conclusão:** A crioterapia não foi eficaz para recuperar os parâmetros funcionais analisados, entretanto, houve discreta melhora dos aspectos morfológicos do grupo eutanasiado no 8º PO.

Palavra-chave: Síndromes de compressão nervosa, modalidades de fisioterapia, tecido nervoso.

Abstract

Objective: To evaluate the effect of cryotherapy in experimental sciatic nerve compression in rats, by morphologic and functional analysis. **Methods:** 42 rats were used, 6 animals per group: G1 - control euthanized on the 15th postoperative day (PO); G2, G3 and G4 - submitted to sciatic nerve compression, euthanized at 3rd, 8th and 15th PO, respectively; G5, G6 and G7 - submitted to sciatic nerve compression and treated with cryotherapy, euthanized at 3rd, 8th and 15th PO, respectively. Assessments of sciatic functional index (SFI) and of functional disability test took place in the pre-injury moments, 2nd PO and the corresponding day euthanasia of injured each group. After the intervention period, the animals were correctly anesthetized was dissected and collected distal sciatic nerve compression procedure for morphological analysis. Statistical analysis was by mixed ANOVA with 5% significance level. **Results:** There was a decrease of SFI after injury and functional disability test showed an increase in paw rise time after injury. Regarding the morphological analysis, G1 showed nerve fibers with standard morphology, and the injured group was nerve degeneration, and G6 showed a slight recovery of the nerve fibers, and present regeneration in G4 and G7. **Conclusion:** Cryotherapy was not effective to recover the functional parameters analyzed, however, there was a slight improvement in the morphology of the group euthanized on the 8th PO day.

Key Words: Nerve Compression Syndromes; Physical Therapy Modalities; Histology.

Introdução

As lesões nervosas periféricas variam em extensão e gravidade, as quais podem ocorrer por trauma, compressão e isquemia, levando a déficits neurológicos tanto motores como sensoriais.¹ Estas lesões afetam a qualidade de vida, incluindo a perda total ou parcial de atividades produtivas, o que origina importantes consequências econômicas e sociais para a população.² Dependendo do tipo da lesão, pode haver recuperação espontânea ou ser necessário uma intervenção cirúrgica ou terapêutica para minimizar os danos causados pela lesão.^{1,3,4}

Em relação ao tratamento, existem diversas técnicas que podem ser utilizadas dentro da fisioterapia, como a crioterapia, um tipo de termoterapia em que se aplica o frio como agente terapêutico.⁵ A crioterapia induz a redução da temperatura corporal, que diminui a taxa metabólica dos tecidos, as reações enzimáticas, a liberação de histamina, leva à vasoconstrição com consequente diminuição do fluxo sanguíneo, permeabilidade da membrana e edema. Além disso, apresenta efeitos analgésicos, por meio da ação sobre a velocidade de condução nervosa e inibição da transmissão de sinais de dor para o corno posterior da medula espinal. O frio também pode agir como um estimulante contra irritante pelas vias centrais da dor, que então ativam as vias descendentes inibitórias, bloqueando a transmissão da dor para o cérebro.⁶

Dentre as diversas formas de aplicação da crioterapia existe a imersão com água e gelo considerada a mais eficaz, pois abrange uma grande área para tratamento de lesões. No entanto a literatura apresenta possíveis efeitos deletérios com relação a aplicação da crioterapia em nervos superficiais.^{5,7,8}

Desta maneira, devido a carência de estudos a respeito da crioterapia em lesões nervosas periféricas e se sua aplicação apresenta algum efeito sobre o aspecto morfológico e funcional, justifica-se o presente estudo.

A partir disso, o objetivo foi avaliar o efeito da crioterapia em modelo experimental de compressão do nervo isquiático em ratos *Wistar*, por meio de análise funcional e morfológica.

Materiais e Métodos

O grupo amostral foi composto por 42 ratos da linhagem *Wistar*, machos, com peso médio de $327 \pm 24,84$ g e idade média de 10 semanas, os quais foram mantidos no Biotério setorial do Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Unioeste (15/07/2014).

O critério utilizado para o número de animais foi baseado no princípio dos 3Rs (*Reduction, Refinement, Replacement*), ou seja, redução, refinamento e substituição, que visa a redução da quantidade de animais em cada experimento, sem prejudicar a comprovação científica dos resultados⁹.

Grupos experimentais

Os animais foram separados aleatoriamente em sete grupos com 6 animais em cada grupo:

- Grupo Controle (C) – Composto por animais que não foram submetidos a compressão nervosa e crioterapia, eutanasiados no 15º dia após início do experimento;
- Grupo Lesão 3ºPO (L3) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 3º pós-operatório (PO);
- Grupo Lesão 8ºPO (L8) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 8º PO;
- Grupo Lesão 15ºPO (L15) – animais submetidos a compressão nervosa, sem nenhuma forma de tratamento, eutanasiados no 15º PO;
- Grupo Lesão com crioterapia 3ºPO (LCrio3) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 3º PO;
- Grupo Lesão com crioterapia 8ºPO (LCrio8) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 8º PO;
- Grupo Lesão com crioterapia 15ºPO (LCrio15) – animais submetidos a compressão nervosa e tratamento com crioterapia, eutanasiados no 15º PO.

Modelo experimental de compressão do nervo isquiático

Inicialmente os animais foram mantidos no LELRF durante duas semanas para adaptação ao local de estudo. Previamente ao procedimento cirúrgico de compressão do nervo isquiático os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de quetamina (95 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (12 mg/Kg) por via intraperitoneal. Após a aplicação da anestesia e a verificação do estado de consciência do animal (observado pela ausência de resposta motora ao pinçamento

da cauda e das pregas interdigitais), os animais foram posicionados em decúbito ventral e foi realizada a tricotomia no local do procedimento cirúrgico.

Em seguida foi realizada uma incisão paralela às fibras do músculo bíceps femoral, expondo o nervo isquiático do membro pélvico direito, com subsequente compressão do mesmo, com o auxílio de pinça hemostática, por um período de 30 segundos. A pressão de pinçamento foi padronizada para todos os animais, utilizando-se como referência o fechamento do segundo dente da cremalheira e realizado pelo mesmo pesquisador.¹⁰ Após a compressão do nervo, foi realizada uma sutura epineural, com fio de Nylon 10.0, para marcar a região lesionada, para posteriores análises (apêndice B).¹¹ Por fim, foi realizada a sutura externa com fio catgut 4.0, aplicado iodo sobre a incisão e os animais foram alojados nas mesmas condições pré-cirúrgicas, separados de acordo com o seu grupo experimental.

Protocolo de tratamento

Para a realização do tratamento, os animais foram contidos manualmente e o membro pélvico direito imerso em recipiente de 1.440 cm³ (20 cm x 12 cm x 6 cm), contendo água e gelo, durante 20 minutos, em temperatura de $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ verificada pelo termômetro Incoterm[®] (apêndice B).¹² Em G5, G6 e G7 o tratamento ocorreu logo após término do procedimento cirúrgico. Assim, em G5 foi realizada uma única sessão de tratamento e, para G6 e G7, o tratamento continuou do 3º dia de PO e terminou no 7º dia PO. Os animais de G2, G3 e G4 também foram posicionados de acordo com o protocolo de tratamento, embora o recipiente não contivesse água e gelo.

Avaliação do Índice funcional do isquiático

Para avaliar a funcionalidade do nervo, foi utilizado o Índice funcional do isquiático, pelo qual foram obtidas imagens da marcha do animal por uma câmera acoplada a uma esteira com armazenamento de imagens em um computador. O método foi baseado na medida de parâmetros pré-estabelecidos nas impressões da pata pélvica dos animais, do lado normal e do lado experimental, sendo medido: o comprimento da pata (PL ou *print lenght*) que é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada (extremidade do 3º dedo ao calcâneo); o espalhar total dos dedos (TS ou *total spread*) que é a distância entre 1º ao 5º dedo; e o espalhar dos dois dedos intermediários (IT ou *intermediate toes*) que é a distância entre o 2º e 4º dedos (apêndice B).^{13,14}

Tais medidas foram realizadas pelo programa Image-Pro Plus 6.0 (MediaCybernetics, Inc.® - Estados Unidos da América) e analisadas no programa Microsoft Office Excel 2007 com a seguinte fórmula:¹⁵

$$IFC = -38,8 \cdot \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109,5 \cdot \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13,3 \cdot \frac{EIT - NIT}{NIT} - 8,8$$

Os resultados foram expressos em percentual negativo da função normal, em que 0 (zero) corresponde a função normal e -100 (menos cem) à disfunção total.¹⁴

Esta avaliação foi realizada nos seguintes momentos: pré-lesão, no 2º dia após a lesão (2ºPO) e no dia correspondente à eutanásia de cada grupo lesionado (3º, 8º e 15ºPO), sendo que o G1 (controle) foi avaliado nos mesmos momentos que os grupos submetidos à lesão, porém com eutanásia no 15ºPO.

Avaliação da nocicepção

A avaliação da nocicepção foi realizada por meio do teste de incapacidade funcional que se caracteriza por um cilindro metálico em movimento e um programa de computador, com conexão a uma bota metálica adaptada à pata do animal.¹⁶ Os animais deambularam sobre o cilindro, de aproximadamente 30 cm de diâmetro recoberto por tela de aço inoxidável, que por meio de um motor elétrico realizava três rotações por minuto. Nos membros pélvicos dos animais foram adaptadas botas, confeccionadas com metal, que conduziam a informação da pata direita, por meio de um fio a um computador, o qual apresentava um programa que mostra os valores de tempo de elevação da pata (TEP) do animal deambulando sobre o cilindro em um minuto; o membro pélvico esquerdo também foi mantido conectado a uma bota, porém sem entrada de informações para o computador (apêndice B). Esta avaliação foi realizada posteriormente ao IFC, sempre nos mesmos dias.

Eutanásia dos animais

Após o período de intervenção, os animais foram devidamente anestesiados e foi coletado um fragmento de 0,5 centímetro (cm) do nervo isquiático direito de cada animal, distal ao procedimento de compressão, demarcada pela sutura epineural. Posteriormente, ainda sob o efeito da anestesia, os animais foram decapitados em guilhotina.

Análise histológica do nervo isquiático

Para a análise histológica, o fragmento do nervo isquiático foi fixado em Bouin, desidratado, diafanizado, infiltrado e embocado em parafina, sendo seccionado transversalmente em 5 µm de espessura em micrótomo Olympus CUT 4055. Posteriormente, foi realizado o procedimento para confecção das lâminas histológicas, com coloração em hematoxilina e eosina (HE), nas quais foram observado e descrito às seguintes estruturas: tecido conjuntivo (epineuro, perineuro e endoneuro), fibra nervosa, infiltrado inflamatório e células de Schwann, sendo fotomicrografadas no aparelho Olympus BX 50. Além de confecção de lâminas com coloração em Tricrômico de Masson, as quais também foram fotomicrografadas, com objetiva de 100x, para análise da porcentagem do tecido conjuntivo endoneuro, em que se selecionava o tecido conjuntivo por meio do programa GIMP 2.8 e o número de pixels obtido foi dividido pelo número total de pixels da imagem e após multiplicado por 100.

Análise estatística

Os resultados são apresentados por meio de gráficos de linha, sendo analisados com auxílio do programa SPSS 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences). A comparação entre os grupos e avaliações, foi realizada entre o grupo controle, lesão e lesão com crioterapia, eutanasiados no mesmo PO. Para a normalidade dos dados foi utilizado o teste Shapiro-wilk, como houve normalidade foi aplicado o teste estatístico ANOVA modelo misto, com pós teste de Bonferroni e

para análise do tecido conjuntivo foi utilizado ANOVA unidirecional com pós teste Tukey, sendo o nível de significância aceito de $\alpha=0,05$.

Resultados

Índice funcional do isquiático

De acordo com a análise do IFC para C, L3 e LCrio3 houve diferença significativa [$F(2;30)=18;p<0,001$], em que L3 e LCrio3 apresentaram valores menores do IFC comparado com C ($p<0,001$) e as avaliações realizadas no 2ºPO e no dia da eutanásia (3ºPO) também mostraram valores menores que a avaliação pré-lesão ($p<0,0001$) (Figura 1A).

Ao analisar C, L8 e LCrio8, também apresentaram diferença significativa [$F(2;30)=72,3;p<0,001$]. Os valores do IFC de L8 e LCrio8 foram menores comparados ao C ($p<0,0001$). As avaliações do 2º e 8ºPO mostraram IFC menor comparado com a pré-lesão ($p<0,0001$), além da avaliação do 8ºPO que obteve valor menor que a do 2ºPO ($p=0,037$) (Figura 1B).

Os dados do C, L15 e LCrio15 mostraram diferença estatística [$F(2;30)=29;p<0,001$]. L15 e LCrio15 obtiveram IFC menor que C ($p<0,001$) e as avaliações do 2º e 15ºPO apresentaram valores menores que avaliação pré-lesão ($p<0,0001$) (Figura 1C).

Teste de incapacidade funcional

Com relação ao C, L3 e LCrio3, os resultados demonstraram diferença significativa [$F(2;30)=19,1;p<0,001$], na avaliação do 2ºPO e do dia da eutanásia (3ºPO) em que o TEP foi maior comparado com a pré-lesão ($p<0,001$) (Figura 2A).

Para C, L15 e LCrio15, observou-se diferença estatística [$F(2;30)=26,9;p<0,001$] na avaliação do 2º e 8ºPO que apresentou TEP maior que a pré-lesão ($p<0,0001$) (Figura 2B).

Ao comparar C, L15 e LCrio15, apresentaram diferença [$F(2;30)=42,7;p<0,001$], na avaliação do 2º e 15ºPO que mostraram valores maiores de TEP comparados com a pré-lesão ($p<0,0001$), além da avaliação do 15ºPO, que obteve TEP maior que a avaliação do 2ºPO ($p=0,005$) (Figura 2C).

Análise morfológica do nervo isquiático e porcentagem do tecido conjuntivo

As análises morfológicas do nervo isquiático do C (controle) revelaram o aspecto morfológico normal, com seus envoltórios conjuntivos íntegros, epineuro, perineuro e endoneuro (Figura 3A). As fibras nervosas também se mostravam normais, com os axônios envoltos por bainha de mielina, e núcleos de células de Schwann na periferia da fibra (Figura 3B).

Em todos os grupos submetidos à lesão, verificou-se que o modelo de compressão nervosa por esmagamento utilizado neste estudo, foi eficiente para causar degeneração nervosa tipo axoniotmese (Figura 3C a H), pois os nervos isquiáticos exibiram eventos morfológicos característicos da degeneração Walleriana.

No grupo lesão (L3) bem como no grupo lesão e submetido à crioterapia (LCrio3), eutanasiados no 3º PO, foram evidentes áreas com degeneração nervosa, e início da resposta inflamatória, com a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas (Figura 3C e D), não havendo diferenças morfológicas relevantes no grupo tratado em relação ao lesão.

Com relação aos grupos lesão (L8) e crioterapia (LCrio8), eutanasiados no 8º dia após a lesão, foram encontrados aspectos morfológicos semelhantes ao L3 e LCrio3, entretanto, em L8 houve um maior acometimento do nervo com aumento de fibras degeneradas e infiltrado inflamatório (Figura 3E). Já no LCrio8, foi verificada uma leve diminuição do infiltrado inflamatório, assim como uma discreta recuperação das fibras nervosas (Figura 3F).

Já em L15 e LCrio15, eutanasiados no 15º PO, foram observados aspectos morfológicos semelhantes, com fibras nervosas ainda degeneradas, mas um grande número em regeneração e uma diminuição no número de células inflamatórias, quando comparado com os demais grupos lesionados e tratados. No entanto não houve diferenças morfológicas significativas entre o grupo lesão (L15) e grupo lesionado e tratado com crioterapia (LCrio15) (Figura 3G e H).

Com relação ao tecido conjuntivo, foi realizada uma análise quantitativa para complementar os dados morfológicos, na qual não houve diferença significativa entre os grupos analisados ($F=0,59;p>0,5$; $F=1,7;p>0,2$ e $F=0,15;p>0,8$, correspondendo respectivamente às comparações dos grupos do 3º, 8º e 15º PO).

Discussão

A lesão do nervo periférico pode ser classificada em três tipos: neuropraxia, axoniotmese e neurotmese. Neste estudo utilizou-se a lesão por esmagamento produzida por meio de uma pinça hemostática durante 30 segundos, a qual provoca axoniotmese, em que a bainha de mielina e os axônios são lesionados, sendo que ocorre a degeneração do axônio no segmento distal a lesão, denominada degeneração Walleriana,^{1,17,18} e como possível tratamento foi utilizado a crioterapia que é recomendada após lesão, para minimizar os efeitos negativos do processo inflamatório.⁶

A partir do modelo de lesão proposto, houve redução da função avaliada pelo índice funcional do isquiático que é um método quantitativo, confiável e reprodutível para avaliar o grau da lesão e de recuperação.¹³ Entretanto, independente do tratamento com crioterapia, não houve recuperação funcional, o que pode ter acontecido devido às alterações morfológicas de cada período analisado (3º, 8º e 15º PO), como a presença de fibras nervosas degeneradas e infiltrado inflamatório, denotando uma relação entre as alterações morfológicas do nervo com sua função.

Outro teste realizado foi o de incapacidade funcional, que verificou o tempo de elevação da pata, o qual aumentou, de acordo com as avaliações realizadas pós-lesão, ou seja, os animais apresentaram aumento da nocicepção, independente do tratamento, o que pode ter ocorrido devido ao acúmulo de substâncias álgicas produzidas durante o processo inflamatório, como a bradicinina¹⁹ sendo que no presente estudo foram observadas características morfológicas inflamatórias que se mantiveram até o 15º PO, as quais serão discutidas posteriormente.

Esses resultados são semelhantes ao estudo de Bertolini et al.,²⁰ em que ratos foram submetidos à compressão do nervo isquiático com protocolo de amarria, entretanto, tratados com corrente de alta voltagem e avaliados também pelo teste de incapacidade funcional, o qual verificou que não houve diminuição da nocicepção. Sendo que isso pode ter auxiliado na diminuição do índice funcional do isquiático do presente estudo, pois devido ao quadro nociceptivo, os animais podem apresentar alteração na marcha, prejudicando a funcionalidade, sem descartar a alteração motora produzida pela compressão nervosa.

De acordo com a morfologia, observou-se que o modelo de lesão levou a degeneração Walleriana, apresentando hiperplasticidade, incluindo a proliferação de células de Schwann, de macrófagos e de células gigantes multinucleadas para região distal à lesão. Estas células possuem a função de fagocitar os restos mielínicos, além disso, as células de Schwann secretam fatores de crescimento para promover a regeneração das fibras nervosas.²¹

Os grupos L3 e LCrio3, apresentaram fibras degeneradas, em degeneração e células do processo inflamatório, isso acontece porque a degeneração se dá logo após a lesão nervosa e o recrutamento de macrófagos e células de Schwann acontece após 48h da lesão,²¹ sendo que somente um dia de crioterapia (LCrio3), não foi suficiente para alterar o aspecto morfológico do nervo neste período.

O grupo lesão eutanasiado no 8ºPO (L8) mostrou um aumento do processo inflamatório com fibras degeneradas, pois neste período aumenta o recrutamento celular para eliminar os restos mielínicos,²² entretanto, o grupo tratado com crioterapia (LCrio8), apresentou diminuição do processo inflamatório e discreta regeneração das fibras nervosas, isso pode ter acontecido devido o tratamento que promove a vasoconstrição, que diminui a permeabilidade celular e o processo

inflamatório, o que conseqüentemente pode ter auxiliado no começo da regeneração.⁷

Os animais de L15 e LCrio15, apresentaram fibras degeneradas, regeneradas e diminuição das células inflamatórias. Segundo Sta et al.,²² aproximadamente duas semanas após a lesão tem início a regeneração nervosa, embora ainda estejam presentes os restos mielínicos e processo inflamatório. No presente estudo o grupo tratado com crioterapia (LCrio15) não se mostrou diferente do grupo lesão (L15), provavelmente pelo tempo de tratamento, visto que a crioterapia quando aplicada durante seis dias foi eficiente na diminuição da intensidade da lesão, como verificado no grupo LCrio8, porém não foi eficaz na manutenção dos efeitos quando interrompida na fase mais tardia, como aconteceu nos animais de LCrio15. Assim, sugere-se que a crioterapia seria interessante como medida terapêutica na primeira semana e, após isso, a aplicação de técnicas adicionais que possam acelerar a regeneração, ou ainda que houvesse continuidade do tratamento até o 15º dia após a lesão.

Complementando os dados morfológicos foi realizada a porcentagem de tecido conjuntivo endoneural, a qual não mostrou diferença significativa entre os grupos, ou seja, a lesão afetou apenas a morfologia da fibra nervosa e não o seu endoneuro.

Contudo, salienta-se como limitação do presente estudo, a ausência de análises morfométricas e imuno-histoquímicas, sendo essas sugestões para próximos estudos, as quais podem complementar os resultados e compreender melhor o efeito da crioterapia na lesão nervosa periférica.

Conclusão

Conclui-se que a crioterapia não foi eficaz para recuperar os parâmetros funcionais analisados, entretanto, houve melhora dos aspectos morfológicos do grupo eutanasiado no 8º PO.

Referências

1. Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol* 2008;119(9):1951–65.
2. Sebben AD, Lichtenfels M, Silva JLB. Regeneração de nervos periféricos: terapia celular e fatores neurotróficos. *Rev Bras Ortop* 2011;46(6):643–9.
3. Martins RS, Bastos D, Siqueira MG, Heise CO, Teixeira MJ. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. *Arq Neuropsiquiatr* 2013;71(10): 811–4.
4. Valls-Sole J, Castillo CD, Casanova-Molla J, Costa J. Clinical consequences of reinnervation disorders after focal peripheral nerve lesions. *Clin Neurophysiol* 2011;122(2):219–28.
5. Espinoza HJG, Bustamante IPL, Pérez SJM. Revisión sistemática sobre el efecto analgésico de la crioterapia en el manejo del dolor de origen músculo esquelético. *Rev Soc Esp Dolor* 2010;17(5):242–52.
6. Corti L. Nonpharmaceutical Approaches to Pain Management. *Top Companion Anim Med* 2014;29(1):24–8.
7. Hanks J, Levine D, Bockstahler B. Physical agent modalities in physical therapy and rehabilitation of small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2015;45(1):29–44.
8. Herrera E, Sandoval MC, Camargo DM, Salvini, TF. Effect of walking and resting after three cryotherapy modalities on the recovery of sensory and motor nerve conduction velocity in healthy subjects. *Rev Bras Fisioter* 2011;15(3):233–40.
9. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, FIGUEIREDO LFP. Aspectos fundamentais da experimentação animal em cirurgia experimental. *Rev Assoc Med Bras*; 2010; 56(1):103–11.

10. Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, *et al.* Nerve Crush injuries - a model for axonotmese. *Exp Neurol* 1994;127(2):284–90.
11. Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, Rasmussen JA, Polo VG, Patterson SI. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. *J Neurosci Methods* 2014;227:166–80.
12. Moreira NB, Artifon EL, Meireles A, Silva LI, Rosa CT, Bertolini GRF. A influência da crioterapia na dor e edema induzidos por sinovite experimental. *Fisioter Pesqui* 2011;18(1):79–83.
13. Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional based on measurements condition of rat sciatic nerve made from walking tracks. *Exp Neurol* 1982;77(3):634–43.
14. Monte-raso VV, Fonseca MCR, Mazzer N, Barbieri G, Rosa RC, Zamarioli A, *et al.* Esteira com velocidade controlada para captação da marcha. *Acta Ortop Bras* 2010;18(1):49–53.
15. Bain J. R, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surger* 1989;83(1):129–38.
16. Tonussi CR, Ferreira SH. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. *Pain* 1992;48(3):421–7.
17. Wood MD, Kemp SWP, Weber C, Borschel GH, Gordon T. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. *Ann Anat* 2011;193(4):321–33.
18. Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66:237-88.
19. Rocha APC, Kraychete DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros GAM, Garcia JAM, *et al.* Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anesthesiol* 2007;57(1):94–105.
20. Bertolini GRF, Nascimento CM, Cunha DM, *et al.* Uso da corrente catódica de alta voltagem sobre a dor em compressão nervosa experimental. *Rev Bras Reumatol*; 52: 214–226.
21. Dubový P. Wallerian degeneration and peripheral nerve conditions for both axonal regeneration and neuropathic pain induction. *Ann Anat.* 2011;193: 267–75.
22. Sta M, Cappaert NLM, Ramekers D, *et al.* The functional and morphological characteristics of sciatic nerve degeneration and regeneration after crush injury in rats. *J Neurosci Methods.* 2014;222: 189–98.

FIGURAS:

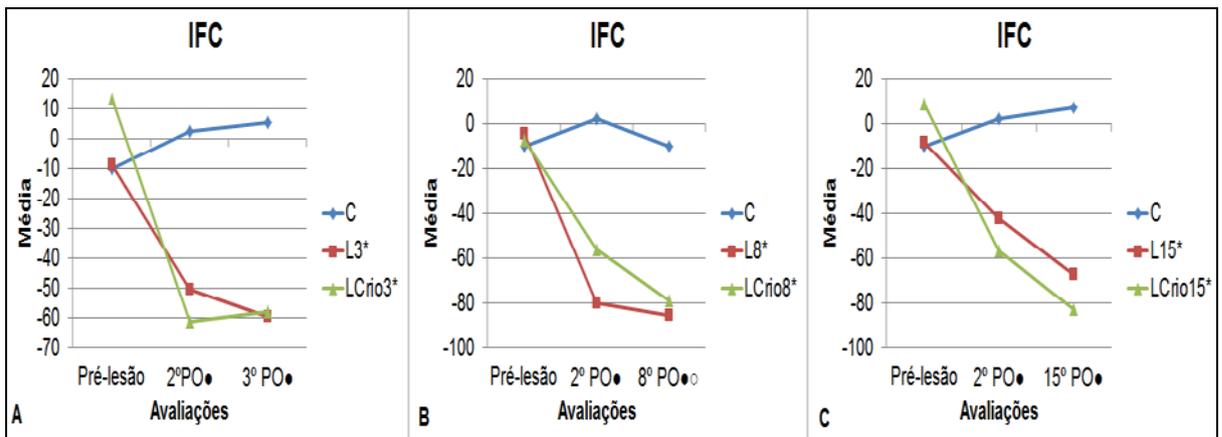


Figura 1 A, B e C – (*) diferença significativa comparada com C, (●) diferença significativa comparada com avaliação pré-lesão e (○) diferença significativa comparada com avaliação no 2°PO.

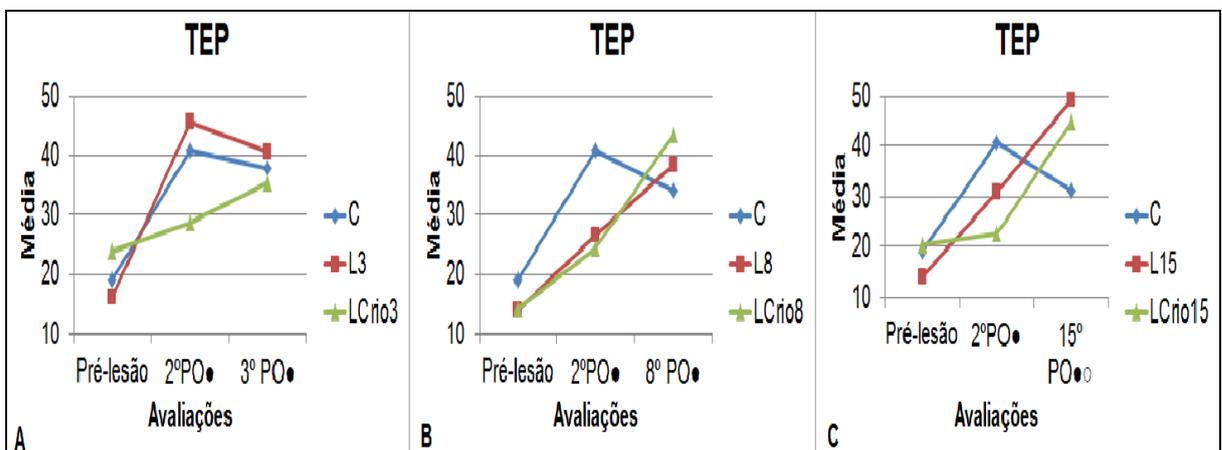


Figura 2 A, B e C – (●) diferença significativa comparada com avaliação pré-lesão e (○) diferença comparada com avaliação no 2°PO.

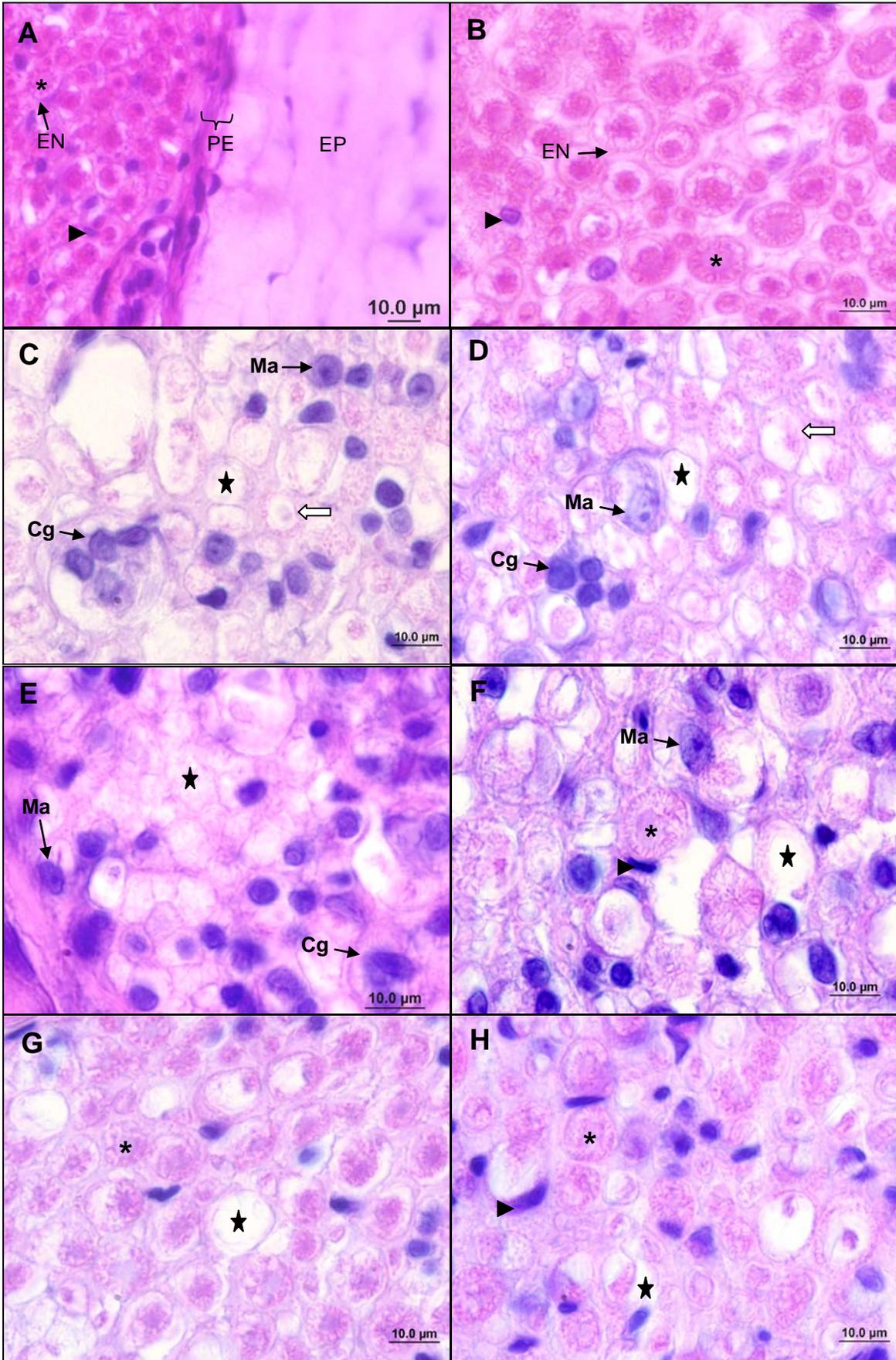


Figura 3 A a H - Fotomicrografias de corte transversal do segmento distal do nervo isquiático de ratos *Wistar*, coloração hematoxilina e eosina (HE). Em A e B grupo

controle (C) no qual se observa bainhas conjuntivas: epineuro (EP), perineuro (PE) e endoneuro (EN), fibra nervosa (*) e núcleos de possíveis células de Schwann (►). Em C e D, grupo L3 e LCrio3 (lesão e lesão com crioterapia respectivamente, eutanasiados no 3º dia pós-operatório), nota-se a presença de uma hiper celularidade com macrófagos (Ma), células gigantes multinucleadas (Cg), fibras degeneradas (estrela) e em degeneração (seta branca). Em E, grupo L8 (lesão e eutanasiado no 8º dia pós-operatório), mostra um grande número de células inflamatórias (Ma e Cg) e fibras degeneradas (estrela). Em F, grupo LCrio8 (lesão e tratado com crioterapia, eutanasiado no 8º dia pós-operatório), mostrando uma leve melhora, com diminuição das células inflamatórias e regeneração das fibras nervosas. Nas figuras G (L15) e H (LCrio15), lesão e lesão tratado com crioterapia respectivamente, eutanasiados no 15º PO, apresentam características morfológicas semelhantes, ainda com algumas fibras degeneradas (estrela), diminuição de células inflamatórias, fibras nervosas normais (*) e núcleos de célula de Schwann (►).

6.1 APÊNDICE B



Figura 1 – Exposição do nervo isquiático com compressão do mesmo, por meio da pinça hemostática (Fonte: autora).

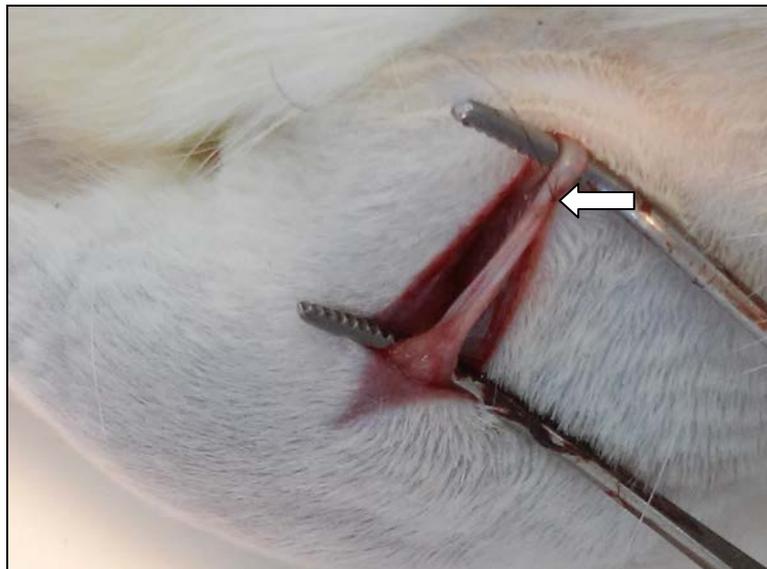


Figura 2 – Seta mostra a sutura epineural realizada após a compressão do nervo isquiático (Fonte: autora).



Figura 3 - Membro pélvico direito do animal imerso em recipiente com água e gelo (Fonte: autora).

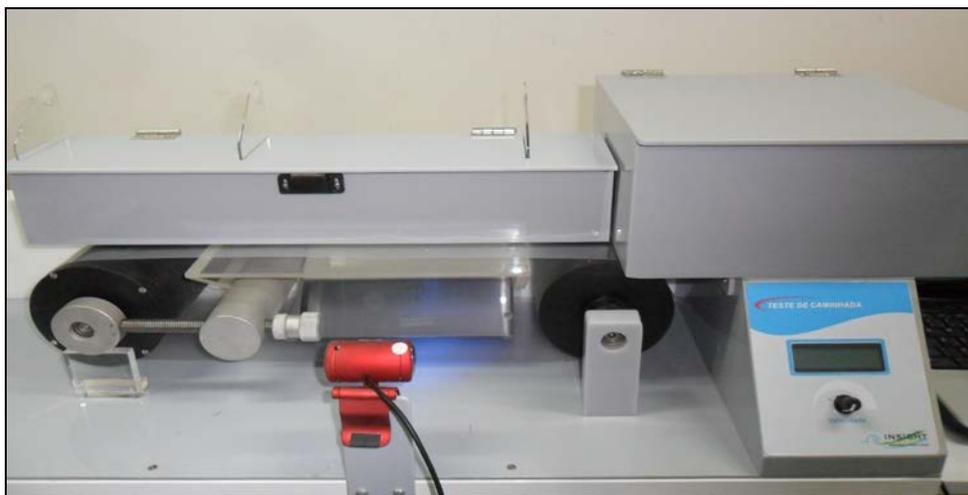


Figura 4 - Índice funcional do isquiático (Fonte: autora).

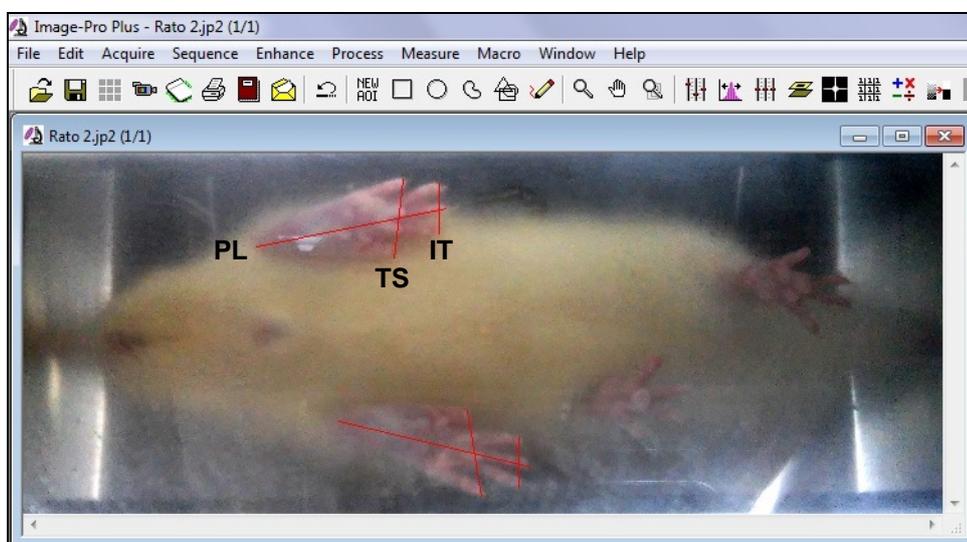


Figura 5 – Análise do PL (comprimento da pata), TS (abertura total dos dedos) e IT (abertura dos dedos intermediários) no programa Image-Pro Plus 6.0, para calcular o Índice funcional do isquiático (Fonte: autora).

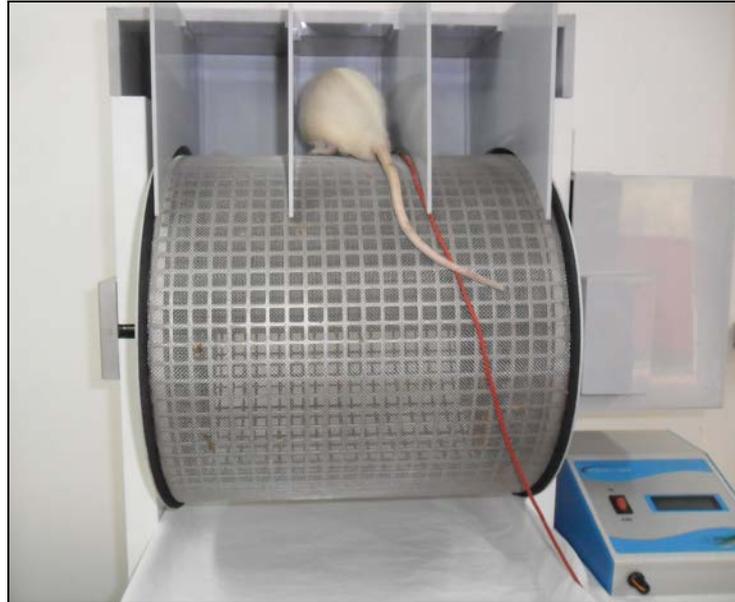


Figura 6 - Teste de incapacidade funcional (Fonte: autora).

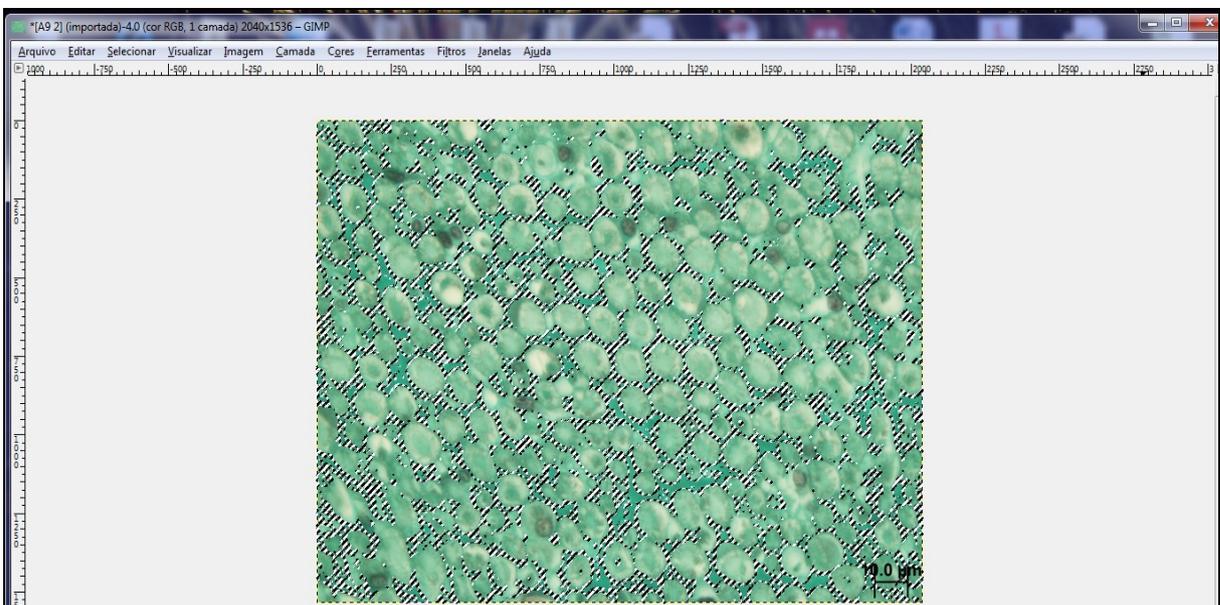


Figura 7 – Análise do tecido conjuntivo pelo programa GIMP 2.8. A região selecionada mostra o tecido conjuntivo.

7 CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que o protocolo de crioterapia utilizado não foi eficaz na recuperação de todos os parâmetros funcionais analisados, entretanto, houve uma discreta melhora dos aspectos morfológicos do grupo eutanasiado no 8º PO.

8 ANEXO A



PARECER DE PROTOCOLO

O protocolo intitulado "Efeitos da crioterapia, no modelo experimental de compressão nervosa, em nervo isquiático de ratos", sob vossa coordenação, foi avaliado pelo CEUA como **APROVADO** para execução.

ATENÇÃO!

O Certificado Experimental deste Protocolo, somente será emitido após o encerramento das atividades previstas e após o encaminhamento do Relatório Final ao CEUA. Este Parecer **NÃO** tem valor como Certificado Experimental.

Cascavel, 15/07/2014

Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
Coordenadora do CEUA
Portaria nº 2729/2014 - GRE

9 ANEXO B

Escopo e política

A **Revista Dor Pesquisa Clínica e Terapêutica (Revista DOR, versão impressa: ISSN 1806-0013; versão eletrônica: ISSN 2317-6393)** é a revista médica multidisciplinar da Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED). Trata-se de uma revista que enfoca o estudo da dor nos contextos da clínica e da pesquisa, reunindo cientistas, médicos, dentistas, veterinários, epidemiologistas, psicólogos, fisioterapeutas e outros profissionais de saúde com o objetivo de publicar suas pesquisas básicas ou aplicadas nessa área do conhecimento. Os artigos são de inteira responsabilidade dos autores e a periodicidade é trimestral. Todos os trabalhos submetidos são revisados e a revista segue os Requerimentos Uniformes para Manuscritos submetidos a revistas biomédicas (*URM – Uniform Requirements of Manuscripts submitted to Biomedical Journals - The International Committee of Medical Journal Editors - ICMJE*). A revista não cobra dos autores taxas referentes à submissão do artigo.

Os artigos recebidos são enviados para 2-4 revisores, que são solicitados a devolver a avaliação em 20 dias. Após o recebimento dos pareceres os autores têm 15 dias de prazo para responderem às sugestões realizadas pela revisão. Artigos sem resposta no prazo de seis meses deverão ser resubmetidos. Serão realizadas tantas revisões quanto necessárias, sendo que a decisão final de aprovação caberá ao editor. Aos autores são solicitadas as garantias que nenhum material infrinja direito autoral existente ou direito de uma terceira parte. A Revista Dor segue o Estatuto Político Editorial (*Editorial Policy Statements*) do Conselho de Editores Científicos (*CSE - Council of Science Editors*). Informações complementares sobre os aspectos éticos e de má conduta podem ser consultados pelo *website* (<http://www.dor.org.br/revista-dor>) e pelo sistema de submissão *online*. A revista não cobra dos autores taxas referentes à submissão do artigo.

Processo Editorial

Para que o manuscrito ingresse no processo editorial, é fundamental que todas as exigências das instruções aos autores tenham sido cumpridas. A secretaria editorial comunicará inadequações no envio do manuscrito. Após a notificação, o autor correspondente terá o prazo de 20 dias para adequação do seu manuscrito. Todos os manuscritos serão submetidos a dois (2) a quatro (4) revisores com prazo de 20 dias para avaliação. Aos autores serão solicitadas garantias que nenhum material infrinja direito autoral existente, ou direito de uma terceira parte.

Os manuscritos ao serem recebidos estarão sujeitos a correções ou modificações de padronização editorial, sem alteração do conteúdo do estudo. Quando não aceitos, os manuscritos serão devolvidos no formato original, com a justificativa do editor.

O manuscrito para publicação será encaminhado ao autor em PDF para correções tipográficas e devolução no prazo de cinco (5) dias. Se acarretar atraso na

devolução da prova gráfica, ao Editor reserva-se o direito de publicar, independente da correção final.

INFORMAÇÕES GERAIS

Os artigos deverão ser enviados para o e-mail: revista-dor-contato@dor.org.br, exceto o documento de Cessão de Direitos Autorais disponível no portal: <http://www.dor.org.br>, devidamente assinado pelo(s) autor(es), que deverá ser encaminhado por correio convencional para o endereço da Sociedade (Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 937 – Cj. 2 - Vila Mariana - 04014-012, São Paulo, SP). No corpo do e-mail deve constar a exclusividade para publicação na Rev Dor, caso o artigo seja aprovado. Os artigos poderão ser enviados em português, inglês e espanhol, porém a publicação impressa será somente em português e a publicação eletrônica em português e inglês. Os autores têm a responsabilidade de declarar conflitos de interesses financeiros e outros; bem como agradecer todo o apoio financeiro ao estudo.

Aprovação para Publicação

Quando aceitos, estarão sujeitos a pequenas correções ou modificações de padronização editorial, que não alterem o estilo do autor. Eventuais modificações na forma, estilo ou interpretação só ocorrerão após prévia consulta.

Correção Final

Os artigos para publicação serão encaminhados ao autor em PDF, para as correções cabíveis e devolução no máximo em uma semana. Se houver atraso na devolução da prova gráfica, o Editor reserva-se o direito de publicar, independentemente da correção final. Será enviado ao autor cujo endereço eletrônico foi indicado para correspondência, ficando o mesmo responsável pela apreciação final da matéria, estando os demais de acordo com a sua publicação.

FORMAS DE APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS

Título: O título do artigo deve ser curto, claro e conciso para facilitar sua classificação. Quando necessário, pode ser usado um subtítulo. Deve ser enviado em português e inglês.

Autor(es): O(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e suas afiliações à Instituições, endereço, fone, fax e endereço eletrônico. Indicar a instituição onde o estudo foi realizado. Agradecimentos a outros colaboradores poderão ser citados no final, antes das referências.

Resumo: Deverá conter no máximo 250 palavras e elaborado de forma estruturada.

Para artigos de Pesquisa e Ensaio Clínicos destacar: **Justificativa e Objetivos, Métodos, Resultados e Conclusão.**

Para os relatos de casos destacar: **Justificativa e Objetivos, Relato do Caso e Conclusão.**

Para artigos de revisão destacar: **Justificativa e Objetivos, Conteúdo e Conclusão.**

Para todos os manuscritos indicar cinco (5) descritores. Recomenda-se a utilização dos Descritores em Ciências da Saúde – DeCS disponível em: <http://decs.bvs.br>

Abstract: A versão do resumo para o inglês será feita por tradutor especializado da Rev Dor.

ARTIGOS DE PESQUISA E ENSAIOS CLÍNICOS

A submissão de artigo de pesquisa relatando pesquisa experimental em humanos ou animais implica que os autores obtiveram aprovação do Comitê de Ética apropriado, e estão em concordância com a Declaração de Helsinque. Uma declaração deste efeito precisa estar incluída no capítulo “Métodos”.

Nomes genéricos dos fármacos devem ser usados. Quando nomes comerciais são usados na pesquisa, estes nomes devem ser incluídos entre parênteses no capítulo “Métodos”.

Deve ser estruturado da seguinte forma:

Introdução - esta sessão deve ser escrita do ponto de vista dos pesquisadores sem conhecimento de especialista na área e deve claramente oferecer - e, se possível, ilustrar – a base para a pesquisa e seus objetivos. Relatos de pesquisa clínica devem, sempre que apropriado, incluir um resumo da pesquisa da literatura para indicar porque o estudo foi necessário e o que o estudo visa contribuir para o campo. Esta sessão deve terminar com uma breve declaração do que está sendo relatado no artigo.

Métodos - deve incluir o desenho do estudo, o cenário, o tipo de participantes ou materiais envolvidos, a clara descrição das intervenções e comparações, e o tipo de análise usado, incluindo o poder de cálculo, se apropriados.

Em artigos originais deve-se informar o nº do processo e o ano do Comitê ou Comissão de Ética da Instituição.

Resultados - Os resultados da análise estatística devem incluir, quando apropriado, riscos relativo e absoluto ou reduções de risco, e intervalos de confiança.

Discussão - Essa seção pode ser dividida em subtítulos com leituras curtas e informativas.

Conclusão - Deve discorrer claramente as conclusões principais da pesquisa e fornecer uma clara explicação da sua importância e relevância.

Referências - Não deve exceder a 15 referências.

Figuras e tabelas: devem ser enviadas separadas do texto principal do artigo.

RELATOS DE CASOS

Relatos de casos clínicos referentes ao estudo e terapêutica da dor devem ser estruturados da seguinte forma: Introdução, Relato do Caso, Discussão e Referências.

ARTIGOS DE REVISÃO

É um artigo de síntese, de assuntos bem estabelecidos, com análise crítica das referências consultadas e conclusões, revisões sistemáticas referentes ao estudo e terapêutica da dor. Devem conter não mais que 2000 palavras. Deve ser estruturado da seguinte forma:

Introdução, Conteúdo, Conclusão e Referências. Não deve exceder a 40 referências.

INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES DE CARTAS

Damos boas vindas a comentários em qualquer artigo publicado na revista. Elas usualmente não são revisadas, mas, ocasionalmente, podem-se convidar respostas às cartas para publicação no mesmo número da revista. Preferem-se cartas com menos de 400 palavras e que contenham cinco ou menos referências (a primeira delas a ser referida deve ser o artigo da Rev Dor ao qual a carta se refere). Os autores devem também providenciar seus dados e endereço completo (incluindo telefone, fax, e e-mail). Todas as cartas são editadas e enviadas para os autores antes da publicação.

Referências: Não deve exceder a 30 referências.

Abreviações:

Por favor, lembre que, apesar de muitos de nossos leitores serem especialistas, eles podem não ser especialistas na sua área e, assim é necessário explicar toda a terminologia e acrônimos a primeira vez que eles são usados no texto deverão ser escritos por extenso, precedida da sigla entre parêntesis, a seguir mencionar somente a sigla.

REFERÊNCIAS

A Revista Dor adota as normas de Vancouver para referência dos artigos e a apresentação deve estar baseada no formato proposto pelo *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), conforme os exemplos abaixo.

Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela *List of Journal Indexed in Index Medicus*, da *National Library of Medicine*. Consulta no site: List of Journal Indexed in Index Medicus <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/journals>

Citar para as referências os primeiros seis (6) autores e a seguir et al.

Formatação proposta pelo ICMJE
<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>

Exemplos de Referências

Artigos de Periódicos

Duggirala S, Lee BK. Optimizing cardiac resynchronization therapy for congestive heart failure. *Curr Probl Cardiol.* 2013;38(6):215-37.

Mais de seis (6) autores

Pinto RZ, Maher CG, Ferreira ML, Hancock M, Oliveira VC, McLachlan AJ, et al. Epidural corticosteroid injections in the management of sciatica: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2012;157(12):865-77.

Artigo com suplemento:

Adedapo KS, Fadiji IO, Orunmuyi AT, Onimode Y, Osifo BO. Radioactive iodine ablation therapy: a viable option in the management of Graves' disease in Nigeria. *Afr J Med Med Sci.* 2012; 41 Suppl:193-6.

Artigo com errata:

Gujral H, Tea C, Sheridan M. Evaluation of nurse's attitudes toward adult patients of size. *Surg Obes Relat Dis.* 2011; 7(4):536-40. Erratum in: *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8(1):129-30.

Livro:

Doyle AC, (editor.) *Biological mysteries solved.* 2nd ed. London: Science Press; 1991. p. 477-80.

Capítulo de livro:

Lachmann B, van Daal GJ. Adult respiratory distress syndrome: animal models. In: Robertson B, van Golde LMG, (editors). *Pulmonary surfactant.* Amsterdam, 2nd ed. Batenburg: Elsevier; 1992. p. 635-63.

Ilustrações

É obrigatória a sua citação no texto. Enumerar figuras e tabelas em algarismos arábicos, elas deverão conter título e legenda. Indicar no texto, o local preferencial de entrada de cada ilustração (Entra Figura x, por exemplo). Usar fotos em branco e preto. As fotos só devem ser usadas se forem essenciais para o bom entendimento do texto e o seu número não deve exceder a três. O mesmo resultado não deve ser expresso por mais de uma ilustração. Sinais gráficos utilizados nas tabelas ou figuras devem ter sua correlação mencionada no rodapé. Figuras e tabelas devem ser enviadas separadas do texto principal do artigo.

Uso de Recursos Digitais:

Texto em formato DOC; figuras em barras ou linhas deverão ser encaminhados em Excel (extensão XLS) (Figura 1, por exemplo). Fotos ou outras figuras deverão ser digitalizadas com resolução mínima de 300 DPI, em formato JPEG. Não inserir ilustrações no corpo do texto, cada ilustração deve ter arquivo individual. O nome do arquivo deve expressar o tipo e a numeração da ilustração (Figura 1, Tabela 2, por exemplo). Títulos e legendas das ilustrações, devidamente numerados, devem estar no arquivo de texto. Cópias ou reproduções de outras publicações serão permitidas apenas mediante a anexação de autorização expressa da Editora ou do Autor do artigo de origem.

Ética:

Ao relatar experimentos com seres humanos, indique se os procedimentos seguidos estavam de acordo com os padrões éticos do Comitê responsável pela experimentação humana (institucional ou regional) e com a Declaração de Helsinque de 1975, tal como revista em 1983.

Registro de Ensaio Clínico:

A Rev Dor respeita as políticas da Organização Mundial de Saúde e da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE - International Committee of Medical Journal Editors) para registro de estudos clínicos, reconhecendo a importância dessas iniciativas para a disseminação internacional de informações sobre pesquisas clínicas com acesso aberto. Assim, a partir de 2012, terão preferência para publicação os artigos ou estudos registrados previamente em uma Plataforma de Registros de Estudos Clínicos que atenda aos requisitos da Organização Mundial de Saúde e da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas. A lista de Plataforma de Registros de Estudos Clínicos se encontra no site <http://www.who.int/ictcp/en>, da *International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP). Entre elas está o Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), que é uma plataforma virtual de acesso livre para registro de estudos experimentais e não experimentais realizados em seres humanos, em andamento ou finalizados, por pesquisadores brasileiros e estrangeiros, que pode ser acessada no site <http://www.ensaiosclinicos.gov.br>. O número de registro do estudo deve ser publicado ao final do resumo.

Uso de Abreviações:

O uso de abreviações deve ser mínimo. Quando expressões extensas devem ser repetidas, recomenda-se que suas iniciais maiúsculas as substituam após a sua primeira menção no texto. Esta deve ser seguida das iniciais entre parênteses. Todas as abreviações inferidas em tabelas e figuras deverão conter o seu significado no rodapé.

A qualidade das figuras é de responsabilidade dos autores.

10 ANEXO C

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Reumatologia (RBR)** publica artigos sobre temas reumatológicos e correlatos, após análise por seu Conselho Editorial. A RBR é catalogada no Web of Science, PUBMED/MEDLINE, Lilacs (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), Scopus, Index Copernicus e Scielo (Scientific Electronic Library Online).

Ao submeter o manuscrito, os autores assumem a responsabilidade de o trabalho não ter sido previamente publicado nem estar sendo analisado por outra revista. Os manuscritos devem ser inéditos, ter sido objeto de análise e com anuência de todos os autores.

Artigos aceitos para publicação passam a ser propriedade da revista, não podendo ser reproduzidos sem consentimento por escrito.

A abreviatura de seu título é **Rev Bras Reumatol**, que deve ser usada em bibliografias, notas de rodapé e em referências bibliográficas

Forma e preparação de manuscritos

APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO

O manuscrito pode ser submetido em português ou inglês, em espaço duplo, com margens de 2,5 cm. No texto não devem ser empregadas abreviaturas não convencionais, gírias (jargões) médicas ou redação tipo telegráfica. A citação de medicamentos e produtos farmacêuticos deve ser feita utilizando-se apenas a nomenclatura farmacológica, sem menção do nome comercial.

ESTRUTURA DO MANUSCRITO

*Manuscript**, *Title Page**, *Cover Letter* e *Author Agreement** devem ser enviados em arquivos individuais. Tabelas e figuras devem ser numeradas conforme citadas no texto e enviadas em arquivos separados, com títulos e legendas correspondentes. (*arquivos obrigatórios)

Página do título

Deve conter: a) título do artigo; b) nome completo dos autores e sua titulação mais importante; c) departamento(s) e instituição(ões) onde se originou o trabalho; d) nome, endereço completo e e-mail válido do autor responsável para correspondência; e) conflito de interesse e agências financiadoras relevantes; f) título resumido com no máximo 60 caracteres.

Author Agreement

É o documento no qual os autores declaram a originalidade do manuscrito, além de aprovarem o artigo objeto da submissão, a autoria e a ordem da lista de autores. Deve ser assinado por todos os autores. A seguir é apresentado um modelo.

Caro Editor,

Os autores, abaixo assinados, declaram que este manuscrito é original, não foi publicado antes e não se encontra submetido para qualquer outra publicação.

Gostaríamos de pedir a atenção do Editor para a presente publicação de nós autores, referente a aspectos do presente manuscrito submetido. Confirmamos que o manuscrito foi lido e aprovado por todos os autores signatários e que não há nenhum outro autor a fazer parte senão os listados. Confirmamos também que a ordem dos autores listada no manuscrito foi aprovada por todos.

Entendemos que o Autor para Correspondência será o único contato para o processo editorial. Ele será o único responsável pela comunicação com os demais autores acerca do progresso da submissão, da revisão do manuscrito e de sua aprovação final.

(Assinatura de todos os autores)

Artigo Original

Deve conter: página do título, página de resumo com palavras-chave, introdução, material e métodos ou pacientes e métodos, resultados e discussão, agradecimentos, referências, tabelas, figuras e legendas das figuras. Não deve exceder 5.000 palavras, incluindo-se as referências e excluindo-se a página do título, resumo, tabelas e legendas. Pode exibir até seis figuras ou tabelas e até 50 referências.

Página de resumo

Deve conter: a) objetivo, métodos, resultados e conclusões, não excedendo 250 palavras; b) três a cinco palavras-chave.

Introdução

A finalidade dessa seção é definir o propósito e as razões para a realização do trabalho. Não se recomenda extensa revisão da literatura.

Pacientes e métodos ou Material e métodos

Deve incluir informações suficientes que permitam a reprodução do trabalho e, quando pertinente, a aprovação pelo Comitê de Ética institucional. Os métodos empregados na análise estatística devem sempre ser citados.

Resultados

Devem ser claros e concisos. Tabelas e gráficos não devem duplicar informações.

Discussão

Deve ser concisa, interpretando os resultados no contexto da literatura atual. É conveniente não ultrapassar a metade do número de páginas do trabalho completo.

Agradecimentos

Apenas às pessoas que contribuíram, por exemplo, com técnicas, discussão e envio de pacientes. Auxílio financeiro deve ser referido na página do título.

Referências

Devem ser citadas no texto em algarismos arábicos, sobrescritos e depois da pontuação, sem parênteses ou colchetes. A numeração deve ser sequencial, de acordo com a ordem de citação no texto. Nas referências com mais de seis autores, devem ser citados os seis primeiros, seguidos pela expressão *et al.* Sugere-se a utilização dos programas Reference Manager ou Endnote, seguindo-se o estilo Vancouver. Exemplos de referência para diferentes formatos são apresentados a seguir. Os autores devem consultar o NLM's Citing Medicine para mais informações sobre os formatos das referências.

Artigo de revista

1. Rivero MG, Salvatore AJ, Gomez-Puerta JA, Mascaro JM, Jr., Canete JD, Munoz-Gomez J *et al.* Accelerated nodulosis during methotrexate therapy in a patient with systemic lupus erythematosus and Jaccoud's arthropathy. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(12):1587-8.

Artigo extraído de endereço eletrônico

2. Cardozo JB, Andrade DMS, Santiago MB. The use of bisphosphonate in the treatment of avascular necrosis: a systematic review. *Clin Rheumatol* 2008. Available from:<http://www.springerlink.com.w10069.dotlib.com.br/content/105j4j3332041225/fulltext.pdf>. [Accessed in February 24, 2008].

Livro

3. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Tabelas e Figuras

Cada tabela ou figura deverá ser numerada em algarismo arábico e enviada em arquivo separado (.jpg, .tif, .png, .xls, .doc) com 300 dpi no mínimo. Título e legenda devem estar no mesmo arquivo da figura ou tabela a que se referem. Tabelas e ilustrações devem ser autoexplicativas, com informações suficientes para sua compreensão sem que se tenha de recorrer ao trabalho. Fotomicrografias devem incluir a escala apropriada.

Artigo de Revisão

Revisões, preferencialmente sistemáticas, podem ser submetidas à RBR, devendo abordar com profundidade um tema de interesse para o reumatologista. Não apresentam estruturação padronizada, prescindindo de introdução ou discussão. Devem apresentar resumo sem subdivisões, com três a cinco palavras-chave, e não devem exceder 6.000 palavras, incluindo-se as referências e excluindo-se a página do título, resumo, tabelas e legendas. Podem exibir até cinco figuras ou tabelas e até 70 referências.

Relato de Caso

Deve incluir resumo e palavras-chave, sem necessidade de subdivisões. O texto, porém, apresenta as seguintes seções: introdução, que deve ser concisa; relato de caso, contendo a descrição e a evolução do quadro clínico, exames laboratoriais, ilustrações e tabelas (que substituem as seções material e métodos e resultados); e discussão. Deve conter no máximo seis autores, e não deve exceder 1.500 palavras, incluindo-se as referências e excluindo-se a página do título, resumo, tabelas e legendas. Pode exibir até duas figuras ou tabelas e até 15 referências.

Comunicação breve

Aborda um ponto ou detalhe específico de um tema. Deve incluir resumo com no máximo 250 palavras, e três a cinco palavras-chave. O texto não necessita subdivisões, deve ter até 2.500 palavras incluindo-se as referências e excluindo-se a página do título, resumo, tabelas e legendas. Pode exibir até três figuras ou tabelas e até 25 referências.

Regras para aplicar tempos verbais apropriados de acordo com o contexto ou seção

Contexto ou seção	Tempo verbal apropriado
Resumo	Passado
Introdução	Presente, quando se referir a fatos estabelecidos e conhecimento prévio
Métodos, materiais e resultados	Passado
Discussão/Conclusão	Combinado de passado (quando se referir a resultados obtidos no trabalho) e presente (quando se referir a fatos estabelecidos e conhecimento prévio); às vezes pode ser utilizado o futuro (especialmente quando se referir a perspectivas de trabalhos a serem realizados)
Atribuições	Passado Ex.: Andrade <i>et al.</i> relataram...
Descrição de Tabelas e Figuras	Presente
Conhecimento estabelecido e resultados prévios	Presente

Regras gerais para se obter uma boa escrita em um artigo científico:

1. Prefira a voz ativa
2. As sentenças devem ser curtas, claras e objetivas
3. A unidade de medida deve ser abreviada quando empregada com valores numéricos (p. ex., 1 mg), mas escrita por extenso quando separada de valor numérico. Utilize o Sistema Internacional de Unidades (*SI units*) para definir as unidades de medida. Lembre-se de deixar um espaço entre o número e a unidade (p. ex., 10 mg/dL), exceto quando for porcentagem, que deve estar junto (p. ex., 70%). O plural das unidades de medida é a mesma forma do singular (p. ex., 1 mL, 10 mL; 1 h, 10 h). Quando iniciarem a frase, os números devem estar por extenso, e não em algarismo arábico
4. Defina a abreviação na primeira vez que aparecer no texto principal. Após a definição, use sempre a abreviação em vez da forma por extenso. Evite o uso de abreviações no título e no resumo
5. Ao escrever em inglês, não utilize contrações (p. ex., prefira *does not* em vez de *doesn't*)

Livro recomendado: Rogers SM. Mastering scientific and medical writing: a self-help guide. Berlin: Springer; 2007.

Considerações éticas e legais

A RBR segue as normas do *Uniform Requirements for Manuscripts (URM) Submitted to Biomedical Journals* desenvolvidas pelo *The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)* - fevereiro de 2006.

Conflito de interesse

A confiança pública no processo de revisão por pares e a credibilidade dos artigos publicados dependem, em parte, de como o conflito de interesse é administrado durante a redação, a revisão por pares e a decisão editorial. O conflito de interesse existe quando um autor (ou instituição do autor), revisor ou editor tem relações financeiras ou pessoais que influenciem de forma inadequada (viés) suas ações (tais relações são também conhecidas como duplo compromisso, interesses conflitantes ou fidelidades conflitantes). Essas relações variam entre aquelas com potencial insignificante até as com grande potencial para influenciar o julgamento, e nem todas as relações representam verdadeiro conflito de interesse. O potencial conflito de interesse pode existir dependendo se o indivíduo acredita ou não que a relação afete seu julgamento científico. Relações financeiras (tais como emprego, consultorias, posse de ações, testemunho de especialista pago) são os conflitos de interesse mais facilmente identificáveis e os mais suscetíveis de minar a credibilidade da revista, dos autores e da própria ciência. No entanto, podem ocorrer conflitos por outras razões, tais como relações pessoais, competição acadêmica e paixão intelectual.

Consentimento informado

Os pacientes têm o direito à privacidade, que não deve ser infringida sem o consentimento informado. A identificação de informações, incluindo os nomes dos pacientes, iniciais ou números no hospital, não devem ser publicadas em descrições, fotografias e genealogias, a menos que a informação seja essencial para os propósitos científicos e o paciente (ou responsável) dê o consentimento livre e esclarecido para a publicação. O consentimento informado para este propósito requer que o manuscrito a ser publicado seja mostrado ao paciente. Os autores devem identificar os indivíduos que prestam assistência a escrever e divulgar a fonte de financiamento para essa assistência. Detalhes identificadores devem ser omitidos se não são essenciais. O anonimato completo é difícil de se conseguir; no entanto, no caso de qualquer dúvida, o consentimento deve ser obtido. Por exemplo, mascarar a região ocular em fotografias de pacientes é uma proteção de anonimato inadequada. Se as características de identificação são alteradas para proteger o anonimato, como na linhagem genética, os autores devem garantir que as alterações não distorçam o significado científico. Quando o consentimento informado foi obtido, ele deve ser indicado no artigo publicado.

Princípios éticos

Ao relatar experimentos em seres humanos, os autores devem indicar se os procedimentos seguidos estiveram de acordo com os padrões éticos do comitê

responsável por experimentação humana (institucional e nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1975, revisado em 2000. Se houver dúvida se a pesquisa foi realizada em conformidade com a Declaração de Helsinki, os autores devem explicar a razão para sua abordagem e demonstrar que o corpo de revisão institucional aprovou explicitamente os aspectos duvidosos do estudo. Ao relatar experimentos com animais, os autores devem indicar se as orientações institucionais e nacionais para o cuidado e a utilização de animais de laboratório foram seguidas.

Registro de ensaios clínicos

Os ensaios clínicos devem ser registrados segundo recomendação da OMS em www.who.int/ictrp/en/. A definição de ensaios clínicos incluem ensaios preliminares (fase I): um estudo prospectivo com o recrutamento de indivíduos submetidos a qualquer intervenção relacionada à saúde (medicamentos, procedimentos cirúrgicos, aparelhos, terapias comportamentais, regime alimentar, mudanças nos cuidados de saúde) para avaliar os efeitos em desfechos clínicos (qualquer parâmetro biomédico e de saúde, inclusive medidas farmacocinéticas e reações adversas). A RBR tem o direito de não publicar trabalhos que não cumpram estas e outras normas legais e éticas explicitadas nas diretrizes internacionais.

Financiamento e apoio

Os autores devem, também, informar se receberam financiamento ou apoio de instituições como CNPq, CAPES, Fundos Remanescentes da SBR, instituições universitárias, laboratórios etc.

Secretaria Editorial RBR

Revista Brasileira de Reumatologia
Av. Brigadeiro Luiz Antonio, 2.466 - conj. 93-94
CEP: 01402-000 - São Paulo - SP - Brasil
Tel./fax: (11) 3289-7165
e-mail: rbreumatol@terra.com.br

Envio de manuscritos

O manuscrito deve ser submetido *online* através do site: <http://ees.elsevier.com/bjr>